



sapientia
tankönyvek

Csapó János
Albert Csilla
Csapóné Kiss Zsuzsanna

Élelmiszer-hamisítás és kimutatása

Scientia Kiadó

Csapó János
Albert Csilla
Csapóné Kiss Zsuzsanna

Élelmiszer-hamisítás és kimutatása

Csapó János
Albert Csilla
Csapóné Kiss Zsuzsanna

Élelmiszer-hamisítás és kimutatása

Scientia Kiadó
Kolozsvár ■ 2016

A kiadvány megjelenését támogatta:



SAPIENTIA
ALAPÍTVÁNY

Kiadja a

Sapientia Alapítvány – Kutatási Programok Intézete
400112 Kolozsvár, Mátyás király (Matei Corvin) u. 4.
Tel./fax: +40-364-401454, e-mail: scientia@kpi.sapientia.ro
Website: www.scientiakiado.ro

Felelős kiadó:

Kása Zoltán

Lektor:

Szakál Pál (Mosonmagyaróvár)

Első magyar nyelvű kiadás: 2016

© Sapientia 2016

Minden jog fenntartva, beleértve a sokszorosítás, a nyilvános előadás, a rádió- és televízióadás, valamint a fordítás jogát, az egyes fejezeteket illetően is.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

CSAPÓ, JÁNOS

Élelmiszer-hamisítás és kimutatása / Csapó János, Albert Csilla, Csapóné Kiss Zsuzsanna. - Cluj-Napoca : Scientia, 2016

Conține bibliografie

ISBN 978-973-1970-98-1

I. Albert, Csilla

II. Csapóné Kiss, Zsuzsanna

664

Tartalomjegyzék

Bevezetés	35
1. Minőségi kémiai analízis	39
1.1. Minőségi kémiai analízis	39
1.2. A minőségi kémiai analízis menete	40
1.2.1. A kationok felkutatása az egyszerű analízis során	41
1.2.2. Az anionok felkutatása az egyszerű analízis során	41
1.2.3. Lángfestési próba	42
1.3. Néhány fontosabb kation és anion kimutatása	43
1.4. Speciális vizsgálatok élelmiszerek komponenseinek kimutatására	47
1.4.1. A nitrátionok kimutatása ivóvízből	47
1.4.2. Arzén kimutatása	47
1.4.3. Az ammónia kimutatása Nessler-reagenssel	48
1.4.4. Zsírok és olajok avasodásának kimutatása Kreiss-reakcióval	48
1.4.5. A különböző fémnyomok kimutatása	49
1.4.6. Karbamid kimutatása élelmiszerekből	49
2. Mennyiségi kémiai analízis	51
2.1. Bevezetés a mennyiségi kémiai analízisbe	51
2.1.1. Mennyiségi kémiai analízis	51
2.1.2. Térfogatós (titrimetriás) kémiai analízis	51
2.1.3. Analitikai mérleg és mérlegelés	52
2.1.4. Laboratóriumi edények anyaga	55
2.1.5. Térfogatmérő eszközök	57
2.1.6. MÉRŐOLDATOK	61
2.1.7. A titrálás hibaforrásai	62
2.2. Acidi-alkalimetria, neutralizációs analízis	64
2.2.1. Az indikátorok működése	64
2.2.1.1. Az indikátorok átcsapása. Indikátorexponens	64
2.2.1.2. Keverékindikátorok	66
2.2.1.3. A kísérleti körülmények hatása az indikátorok átcsapására	67
2.2.1.4. Néhány acidi-alkalimetriás indikátor	68
2.2.2. Ekvivalenciapont	69
2.2.2.1. Az ekvivalenciapont számítása	69
2.2.3. A hidrogénion-koncentráció változása titrálás közben	72
2.2.3.1. A pH változása erős sav, illetve erős bázis titrálása közben	72
2.2.3.2. A pH változása gyenge sav és gyenge bázis közömbösítése alkalmával	74
2.2.3.3. A pH mérése	74
2.2.4. MÉRŐOLDATOK KÉSZÍTÉSE	76
2.2.4.1. 1 M HCl készítése és beállítása	77
2.2.4.2. 0,1 M HCl készítése és beállítása	79
2.2.4.3. 1 M NaOH készítése és beállítása	80

6 ■ Tartalomjegyzék

2.2.4.4.	0,1 M NaOH készítése és beállítása	81
2.2.4.5.	0,5 M alkoholos KOH készítése	82
2.2.5.	Erős savak titrálása	82
2.2.5.1.	Sósavoldat HCl-tartalmának meghatározása	83
2.2.5.2.	Salétromsavoldat HNO ₃ -tartalmának meghatározása	83
2.2.5.3.	Kénsavoldat H ₂ SO ₄ -tartalmának meghatározása	84
2.2.5.4.	Peroxi-diszulfátok meghatározása	84
2.2.6.	Gyenge savak titrálása	85
2.2.6.1.	Ecetsavoldat CH ₃ COOH-tartalmának meghatározása	85
2.2.6.2.	Ecetsavanhidrid meghatározása	86
2.2.6.3.	Tejsav titrálása	86
2.2.6.4.	Borkősav és borkő titrálása	87
2.2.6.5.	Bórsav és alkáliborátok H ₃ BO ₃ -tartalmának meghatározása	87
2.2.6.6.	Szénsavoldat CO ₂ -tartalmának meghatározása	88
2.2.6.7.	Foszforsav és alkálifoszfátok meghatározása	89
2.2.7.	Erős és gyenge bázisok titrálása	91
2.2.7.1.	Kálilúg, nátronlúg és meszesvíz titrálása	91
2.2.7.2.	Ammóniameghatározás	92
2.2.8.	Nitrátmeghatározás	94
2.2.9.	Acetilszalicilsav (aszpirin) meghatározása	95
2.3.	Oxidációs és redukciós titrálási módszerek	96
2.3.1.	Oxidáció-redukció	96
2.3.2.	Redoxindikátorok	97
2.3.3.	Permanganometria	97
2.3.4.	Jodometria	98
2.3.4.1.	Jodometriás indikátorok	100
2.3.4.2.	0,1 M Na ₂ S ₂ O ₃ mérőoldat	101
2.3.4.3.	0,1 M I ₂ mérőoldat	103
2.3.4.4.	Oxidáló anyagok által szabaddá tett jód mérése	104
2.3.4.4.1.	Szabad halogének meghatározása	104
2.3.4.4.2.	Hipokloritok meghatározása	105
2.3.4.4.3.	Hidrogén-peroxid meghatározása	106
2.3.4.4.4.	Permanganátok jodometriás meghatározása	106
2.3.4.4.5.	Vízben oldott oxigén meghatározása Winkler szerint	107
2.3.4.5.	Jodometriás cukormeghatározás	108
2.3.4.6.	Zsírok és olajok jódszámának, illetve jódbromszámának meghatározása	109
2.4.	Csapadékos titrálási módszerek	111
2.4.1.	Néhány módszer a csapadékos titrálások végpontjának jelzésére	112
2.4.2.	0,1 M NaCl mérőoldat készítése	113
2.4.3.	0,1 M AgNO ₃ mérőoldat készítése	114
2.4.4.	0,1 M NH ₄ SCN (KSCN)-oldat készítése és beállítása	114
2.4.5.	Az ezüst csapadékos meghatározása	114
2.4.6.	Kloridionok meghatározása	115
2.4.7.	Jodidionok meghatározása	115

2.5. Komplex vegyületek képződésén alapuló módszerek	116
2.5.1. Komplexometria. Kelatometria	116
2.5.1.1. Komplexometriás indikátorok	117
2.5.1.2. Komplexon(III)-mérőoldat készítése	118
2.5.1.3. Kalcium és magnézium együttes mennyiségének megállapítása. A víz összes keménységének meghatározása	119
2.5.1.4. A kalcium komplexometriás meghatározása	120
2.5.1.5. A vas(III)-ionok komplexometriás meghatározása	120
3. Élelmiszerek összetételének meghatározása	121
3.1. Nedvességtartalom meghatározása	125
3.1.1. Nedvességtartalom meghatározása előszárítás nélkül	126
3.1.2. A nedvességtartalom meghatározása előszárítással	126
3.2. Az ásványi alkotórészek meghatározása	127
3.2.1. A nyershamu és a sósavban oldhatatlan hamutartalom meghatározása	127
3.2.1.1. A nyershamutartalom meghatározása	127
3.2.1.2. A sósavban oldhatatlan hamutartalom meghatározása	128
3.2.2. Az ásványi alkotórészek meghatározása spektroszkópiai módszerekkel	129
3.2.2.1. Emissziós színeképelemzés	130
3.2.2.1.1. Lángfotometria	130
3.2.2.1.2. Plazmaemisszió	131
3.2.2.2. Abszorpciós színeképelemzés	134
3.2.2.2.1. Atomabszorpciós fotometria	134
3.2.2.2.2. Ultraibolya és látható abszorpciós fotometria	137
3.2.2.3. Infravörös spektroszkópia	138
3.2.2.4. Válogatott fejezetek	140
3.2.2.4.1. Az ember ásványianyag-ellátottságának vizsgálata	140
3.2.2.4.2. A tehéntej ásványianyag-tartalma és annak megváltozása a tőgygyulladás következtében	141
3.2.2.4.2.1. A kloridion-tartalom meghatározása	142
3.2.2.4.2.2. A nátriumtartalom meghatározása	143
3.2.2.4.2.3. A tej ásványi alkotórészeinek meghatározása	144
3.2.2.4.2.4. A masztitiszes tej részarányának meghatározása elegyitejből az ásványianyag-tartalom alapján	145
3.2.2.4.3. Szeléntartalom meghatározása fluorimetriás módszerrel	146
3.2.2.4.4. Kéntartalom-meghatározás élelmi anyagokból induktív csatolású plazmaemisszióval	147
3.2.2.4.5. Ionszelektív elektródok alkalmazása az élelmiszeranalitikában	148
3.2.2.4.5.1. Az ionszelektív elektródák alkalmazása	148
3.2.2.4.5.2. A roncsolásban képződött ammónia meghatározása ionszelektív elektróddal	151

3.3. Szerves alkotórészek meghatározása	152
3.3.1. A nitrogén és különféle nitrogéntartalmú anyagok meghatározása	152
3.3.1.1. A fehérjék kivonása, kicsapása	153
3.3.1.2. A fehérjetartalom mérése a nitrogéntartalom alapján	155
3.3.1.3. A nitrogéntartalom mérése Dumas módszerével	157
3.3.1.4. Kjeldahl-féle módszer	160
3.3.1.5. Kjel-Foss-automata a nitrogéntartalom meghatározására	163
3.3.1.6. Tecator Kjeltec fehérjemeghatározó	165
3.3.1.7. A valódifehérje meghatározása	167
3.3.1.8. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása	168
3.3.1.8.1. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása in vitro <i>pepszines</i> hidrolízissel	168
3.3.1.8.2. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása in vitro <i>pepszin-tripszin</i> -hidrolízissel	169
3.3.1.8.3. A multienzimés módszer a fehérje in vitro emészthetőségének megállapítására	169
3.3.1.8.4. A fehérje in vitro emészthetőségének meghatározása <i>pankreatinos</i> hidrolízissel és aminosav-analízissel	170
3.3.1.9. Fehérjetartalom-meghatározás spektrofotometriás módszerekkel	171
3.3.1.9.1. Ultraibolya spektrofotometriás módszerek	171
3.3.1.9.2. Spektrofotometriás módszerek a látható fény tartományban	172
3.3.1.9.2.1. Biuret-módszer	172
3.3.1.9.2.2. Lowry-módszer	174
3.3.1.9.3. Fehérjetartalom-meghatározás festékkötéssel	176
3.3.1.9.3.1. Bradford-módszer	177
3.3.1.9.4. Egyéb módszerek a fehérjetartalom meghatározására	180
3.3.1.10. Élelmiszer-fehérjék vizsgálata elektroforézissel és izoelektromos fókuszálással	181
3.3.1.10.1. Az elektroforézis és analitikai alkalmazása	181
3.3.1.10.2. A poliakrilamidgél-elektroforézis (PAGE)	182
3.3.1.10.2.1. A fehérjeminták előkészítése, gélre vitele és az elektroforézis folyamata	183
3.3.1.10.2.2. Speciális alkalmazások az élelmiszerfehérje-kutatásban	185
3.3.1.10.3. Különböző fehérjék szétválasztása és meghatározása izoelektromos fókuszálással	186
3.3.1.11. A fehérjék oszlopkromatográfiája	187
3.3.1.11.1. A fehérjék vizsgálata adszorpciós oszlopkromatográfiával	187
3.3.1.11.2. A fehérjék vizsgálata megoszlásos oszlopkromatográfiával	188
3.3.1.11.3. A fehérjék vizsgálata ioncserés oszlopkromatográfiával	188

3.3.1.11.3.1. Elválasztás ioncserélő műgyantákon	189
3.3.1.11.3.2. Elválasztás cellulózalapú ioncserélőkkel	189
3.3.1.11.3.3. Elválasztások ioncserélő gélekkel	190
3.3.1.11.4. A fehérjék vizsgálata egyéb kromatográfiás módszerekkel	190
3.3.1.12. A fehérjék gélkromatográfiája	191
3.3.1.12.1. A gélkromatográfia alapjai	191
3.3.1.13. A fehérjék rétegekromatográfiája	192
3.3.1.13.1. A rétegekromatográfia alapjai	192
3.3.1.13.2. A rétegekromatográfia alkalmazása élelmiszer- fehérjék vizsgálatára	193
3.3.1.14. Roncsolás nélküli fehérjemeghatározás	194
3.3.1.15. A fehérje aminosav-összetételének meghatározása	196
3.3.1.15.1. Az aminosav-összetétel meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával	196
3.3.1.15.2. Az aminosav-összetétel meghatározása nagyhaté- konyságú folyadék-kromatográfiával	203
3.3.1.15.3. Az aminosav-összetétel meghatározása fotometrián	206
3.3.1.15.3.1. A metionintartalom meghatározása	207
3.3.1.15.3.2. A cisztintartalom meghatározása	208
3.3.1.15.3.3. A triptofántartalom meghatározása	210
3.3.1.15.4. A hasznosítható lizintartalom meghatározása	212
3.3.1.16. Válogatott fejezetek	213
3.3.1.16.1. Az állati eredetű fehérjék keratintartalmának meghatározása	213
3.3.1.16.2. A bakteriális eredetű fehérje meghatározása	214
3.3.1.16.3. Speciális kromatográfiás módszerek az egyes aminosavak meghatározására	216
3.3.1.16.4. A tej fehérjefrakcióinak szétválasztása és meghatározása	217
3.3.1.16.5. A masztitiszes tőgyből származó tej kimutatása a szabad D-aminosav-tartalom alapján	218
3.3.1.16.6. A karbamidtartalom meghatározása	220
3.3.2. Zsirtartalom és zsírsavösszetétel meghatározása	221
3.3.2.1. A nyerszsirtartalom meghatározása	221
3.3.2.2. A peroxidszám és a savszám meghatározása	222
3.3.2.3. A zsír zsírsavösszetételének meghatározása gázkromatográfián	224
3.3.2.3.1. A gázkromatográfia elmélete	224
3.3.2.3.2. A napraforgóolaj és a disznózsír zsírsavösszetételének meghatározása	229
3.3.2.4. Válogatott fejezetek	230
3.3.2.4.1. Az illósavak meghatározása gázkromatográfián	230
3.3.2.4.2. F ₂ -toxin meghatározása gázkromatográfiával	232
3.3.2.4.3. Antioxidánsok (BHT) meghatározása	233

3.3.2.4.4. Szeléntartalom meghatározása biológiai mintákból gázkromatográfiás eljárással.	234
3.3.3. A nyersrost és a rostfrakciók meghatározása.	235
3.3.3.1. A nyersrosttartalom meghatározása klasszikus módszerrel.	235
3.3.3.2. A rostfrakciók meghatározása Van Soest szerint	237
3.3.4. A nitrogénmentes kivonható anyagok meghatározása	239
3.3.4.1. A cukrok kimutatása és meghatározása	240
3.3.4.1.1. Aldózok kimutatása Fehling-reakcióval és ezüsttükör- próbával	240
3.3.4.1.2. Az összes cukortartalom meghatározása	241
3.3.4.1.3. Monoszacharidok szétválasztása és meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával	243
3.3.4.2. A keményítő és meghatározása	245
3.3.4.2.1. Különböző kísérletek keményítővel.	245
3.3.4.2.2. A keményítőtartalom meghatározása	246
3.3.4.3. Válogatott fejezetek	247
3.3.4.3.1. Cukoripari késztermékek hamutartalmának meghatá- rozása az elektromos vezetőképesség alapján	247
3.3.4.3.2. A melasszal kapcsolatos vizsgálatok	248
3.3.4.3.2.1. A melasz szárazanyag-tartalmának meghatározása kézi refraktométerrel.	248
3.3.4.3.2.2. A melasz pH-jának elektrometriás meghatározása	250
3.3.4.3.2.3. A melasz összes aniontartalmának meghatározása ioncserével.	251
3.3.4.3.2.4. A melasz kálium- és nátriumtartalmának megha- tározása lángfotometrián	252
3.3.4.3.3. A háztartási keményítő tisztaságának vizsgálata polarimetriás módszerrel	252
3.3.5. A provitaminok és a vitaminok meghatározása.	253
3.3.5.1. A karotin- és a xantofilltartalom meghatározása	254
3.3.5.2. Zsírolldható vitaminok meghatározása	255
3.3.5.2.1. Az A-vitamin-tartalom meghatározása HPLC- módszerrel	255
3.3.5.2.2. A D ₃ -vitamin meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával.	256
3.3.5.2.3. E-vitamin (α -tokoferol) meghatározása nagyhatékony- ságú folyadékkromatográfiával	257
3.3.5.2.4. A zsírolldható vitaminok szimultán meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával	257
3.3.5.3. A vízoldható vitaminok meghatározása	258
3.3.5.3.1. A B ₁ -vitamin- (tiamin-)tartalom meghatározása HPLC-vel fluorimetriás detektálással	258
3.3.5.3.2. A nikotinsavamid meghatározása HPLC-módszerrel	259
3.3.5.3.3. A C-vitamin-tartalom meghatározása	260
3.3.5.3.3.1. A C-vitamin-tartalom meghatározása 2,6-diklór- fenol-indofenolos titrimetriával	260

3.3.5.3.3.2. Az aszkorbinsav-tartalom meghatározása spektrofotometriás módszerrel	261
3.3.5.3.3.3. Az aszkorbinsav meghatározása HPLC-módszerrel	262
3.3.5.3.3.4. A tej aszkorbinsav-tartalmának meghatározása	263
3.3.5.3.4. Az U-vitamin-tartalom meghatározása automatikus aminosav-analizátorral	264
3.3.5.3.5. A karnitin meghatározása fotometriával	264
3.3.6. A mikotoxinok és meghatározásuk	265
3.3.6.1. A mikotoxinok általános jellemzése	265
3.3.6.2. A mikotoxinok képződésének feltételei	265
3.3.6.3. A mikotoxinok fizikai, kémiai és biológiai sajátosságai	266
3.3.6.4. A mikotoxinok meghatározása kémiai módszerekkel	267
3.3.6.4.1. Az F ₂ -toxin-tartalom vizsgálata vékonyréteg-kromatográfiával	267
3.3.6.4.2. Az F ₂ -toxin meghatározása gázkromatográfiával	268
3.3.7. Válogatott fejezetek	269
3.3.7.1. A szója és a szójatermékek tripszinh inhibitor-aktivitásának meghatározása	269
3.3.7.2. A szója ureázaktivitásának meghatározása	270
3.3.7.3. A szója hőkezeltségének megállapítása krezolvörös festékkötési próbával	271
3.3.8. Stabil izotópok alkalmazása az élelmiszerek hamisításának kimutatására	272
4. Az élelmiszer-hamisításról általában	275
4.1. Hamisítják-e napjainkban az élelmiszereket?	275
4.2. Az élelmiszer-hamisítás és annak jogi háttere	277
4.2.1. Mít jelent az élelmiszer-hamisítás?	277
4.2.2. Hogyan lehet az élelmiszer-hamisítás ellen küzdeni?	278
4.2.3. Milyen hatósági intézkedéseket lehet tenni a hamisítás felderítése esetén?	278
4.2.4. Milyen szankciókat lehet hozni az élelmiszer-hamisítás esetén?	278
4.2.5. A hamisítás elleni országos szervezetek	279
4.2.6. A hamisítás elleni nemzeti stratégia	280
4.2.7. Milyen előnyei várhatók az élelmiszer-hamisítás elleni fellépésnek?	282
4.2.8. Egy-két példa az élelmiszer-hamisítások témaköréből	282
4.2.9. Büntethető-e a hamisítás?	285
5. Speciális élelmiszer-hamisítási esetek és a hamisítások kimutatása	287
5.1. Tej és tejtermék hamisítása	287
5.1.1. A különféle állatfajtáktól származó tejek és azok hamisítása	287
5.1.1.1. A bivalytej tehéntejjel történő hamisítása	289
5.1.1.2. Az anyatej hamisítása egyéb tejekkel	290
5.1.2. Szójatej a tehéntejben	291
5.1.3. A savó és az író kimutatása a tejből	292
5.1.4. Savófehérje a tejtermékekben	293
5.1.5. Tejporból előállított (újraalkotott) tej	294

5.1.6. A tej- és tejtermék-hamisítás egyéb lehetőségei	294
5.1.6.1. Egyéb zsiradékok a tejben, a vajban és a ghee-ben	295
5.1.6.2. A tej vizezése és annak kimutatása	298
5.1.7. Tej és tejtermékek hőkezeltiségének meghatározása	300
5.1.7.1. A peroxidáz enzim kimutatása Storch-féle próbával	300
5.1.7.2. A foszfatáz enzim mennyiségi meghatározása a 2,6-dibromkinon-klórimid-fenol reakció segítségével	301
5.1.7.3. A foszfatáz enzim kimutatása hidrogén-orto-krezoltalein foszfáttal	301
5.1.8. A gyulladáshoz vezető szarmazó, kóros összetételű tej kimutatása	302
5.1.9. A fogyasztásra alkalmatlan, romlott tej mennyiségének kimutatása alizarin-tesztel	303
5.2. A hús és a húspari termékek hamisítása	304
5.2.1. A különböző fajok húsának azonosítása	305
5.2.1.1. Elektroforézis	305
5.2.1.2. Poliakrilamid gélelektroforézis	306
5.2.1.3. Poliakrilamid gélelektroforézis izoelektromos fókuszálás	306
5.2.1.4. Poliakrilamid gélelektroforézis nátrium-dodecil-szulfáttal	307
5.2.1.5. Immunológiai módszerek	307
5.2.2. Egyéb módszerek a húshamisítás kimutatására	310
5.2.2.1. Zsír- és zsírsavanalízis	311
5.2.2.2. Ásványi anyagok analízise	312
5.2.2.3. Biokémiai indexek alkalmazása a húshamisításban	312
5.2.3. A hús frissességének meghatározása	313
5.2.3.1. A fehérje bomlástermékeinek analízise	313
5.2.3.2. Az összes illékony bázis analízise	314
5.2.3.3. Az amino-nitrogén és a szabad aminosavak meghatározása	314
5.2.3.4. Az aminok mérése	315
5.2.3.5. Az indol meghatározása	316
5.2.3.6. A zsír bomlástermékeinek analízise	316
5.2.3.7. Nukleinsav-bomlástermékek	317
5.2.3.8. Egyéb módszerek a hús romlottságának kimutatására	317
5.2.4. A hús és a hal minőségének műszeres mérése	318
5.2.5. A hústartalmú ételek minősítése	318
5.2.5.1. A húsételek szennyezettségének kimutatása	319
5.2.5.2. A darált húsok minőségének meghatározása	320
5.2.6. Húsadalékok és kiegészítők	320
5.3. Gabonafélék, szennyeződések és hamisítások kimutatása	321
5.3.1. Szennyeződések a gabonában	322
5.3.1.1. A különféle gabonakeverékek és azok hatása a tulajdonságokra	322
5.3.2. A különféle rizsfajták megkülönböztetése	324
5.3.3. Gabonafélék, hüvelyesek és keverékeik	325
5.3.4. A minőséget befolyásoló indexek a búza- és egyéb lisztteknél	325

5.3.5. A gabonafélék és a belőlük készített termékek mikrobiológiai minősítésére szolgáló módszerek	326
5.4. Zöldségek, gyümölcsök és belőlük készült élelmiszerek	328
5.4.1. A gyümölcs- és zöldséglevelek minősítésére alkalmas vizsgálatok	329
5.4.1.1. Szerves savak és egyéb kiegészítők	331
5.4.2. Héjhomogenizátum kimutatása citrom- és narancsfélék levéből	333
5.4.3. A gyümölcslevelek vízzel való hígítása	333
5.4.4. Vitaminok	335
5.4.5. Stabil izotópok analízise	336
5.4.6. Gyümölcslevelek egymáshoz keverésének kimutatása	336
5.4.7. A gyümölcsök és zöldségek érettségi és romlottsági fokára utaló paraméterek	340
5.5. Étkezési olajok és zsírok	341
5.5.1. A tárolás során lejátszódó változások mérésére alkalmas indikátorok	342
5.5.2. A hőkezelt olajok kimutatására alkalmas indikátorok	343
5.5.3. Toxikus szennyeződések és összetevők	344
5.5.4. Módszerek a különféle egymáshoz kevert olajok kimutatására	345
5.5.5. A növényi olajok, valamint a tengeri származású és állati zsírok elegyítésének kimutatása	348
5.5.6. A zsírok és olajok egyéb szennyező anyagai	348
5.5.7. Egyéb speciális komponensek az egyes olajok kimutatására	349
5.5.8. Az egymáshoz kevert állati zsiradékok analízise	349
5.6. Az élelmiszerek minőségében bekövetkezett változások nyomon követése az előállítás során	349
5.6.1. A hőkezelés hatása az élelmiszer összetételére	350
5.6.2. Kémiai markerek a hőkezelés kimutatására	354
5.6.3. A friss és a fagyasztott, majd kiengedett élelmiszerek megkülönböztetése	355
5.6.4. A tárolás során bekövetkező változások becslésére alkalmas indexek	356
5.6.5. Az élelmiszerek besugárzását jelző indikátorok	357
5.7. Példák a közelmúltból az élelmiszerek hamisítására	360
5.7.1. Csecsemőtápszerek hamisítása melaminnal	360
5.7.2. A taumatin édesítőszer hamisítása, és annak kimutatására alkalmas módszerek	363
5.7.3. Az élelmiszerek dioxintartalma és hatása az emberi szervezetre	370
5.7.4. A méz hamisítása és annak kimutatása	373
5.8. A bor és annak hamisítása	380
5.8.1. A szőlő, a must és a bor kémiai összetétele	380
5.8.1.1. A szőlő érésének biokémiája	380
5.8.1.2. A must kémiai összetétele	383
5.8.1.3. Az erjedés biokémiája	393
5.8.1.4. A bor kémiai összetétele	395
5.8.1.5. A bor fejlődésének kémiája	403

5.8.2. Borhamisítás	404
5.8.2.1. A borhamisítás definíciója	404
5.8.2.2. A borhamisítás történeti áttekintése	405
5.8.2.3. A borhamisítás leleplezésére alkalmas korabeli módszerek	406
5.8.2.4. A borhamisítás jelenlegi helyzete	407
5.8.2.5. Néhány példa a bor hamisításának kimutatására nagyműszeres analitikai kémiai technikákkal	409
5.9. A pálinka és annak hamisítása	410
5.9.1. A pálinka definíciója	410
5.9.2. A pálinka története	410
5.9.3. A pálinkafajták csoportosítása	412
5.9.4. A pálinka nyersanyagai, minőségi követelmények	412
5.9.5. A pálinkakészítés technológiája	413
5.9.5.1. Az alapanyagok átvétele és minősítése	413
5.9.5.2. A cefrézés	414
5.9.5.3. Lepárlás	417
5.9.5.4. A pálinka tárolása, érlelése, házasítása	419
5.9.5.5 A pálinka íz- és illatszerkezetének kialakítása, a pálinkaaromák	420
5.9.6. Eredetvédett pálinkák, különféle pálinkafajták	422
5.9.7. A pálinka minősége, a hamisítás lehetősége	423
5.9.7.1. A pálinka metilalkohol-tartalma	424
5.9.7.2. A pálinka etil-karbamát-tartalma	425
5.9.7.3. Egyéb, egészségre ártalmas anyagok a pálinkában	427
Felhasznált és ajánlott irodalom	429
Abstract – Food adulteration	433
Rezumat – Falsificarea alimentelor	435
A szerzőkről	437
Függelék.	439
Az elemek rendszáma, vegyjele és atomtömege	439
Az elemek periódusos rendszere	441

Contents

Introduction	35
1. Qualitative chemical analysis	39
1.1. Qualitative chemical analysis	39
1.2. The course of the qualitative chemical analysis	40
1.2.1. Detection of cations during the inorganic analysis	41
1.2.2. Detection of anions during the inorganic analysis	41
1.2.3. Flame-colouring test	42
1.3. Detection of some important cations and anions	43
1.4. Specific examinations for the detection of foodstuff components	47
1.4.1. Detection of nitrate ions in drinking water	47
1.4.2. Detection of arsenic	47
1.4.3. Detection of ammonia by Nessler reagent	48
1.4.4. Detection of fats and oil rancidity by the Kreiss reaction	48
1.4.5. Detection of various metal traces	49
1.4.6. Detection of carbamide in foodstuffs	49
2. Quantitative chemical analysis	51
2.1. Introduction to the quantitative chemical analysis	51
2.1.1. Quantitative chemical analysis	51
2.1.2. Volumetric (titrimetric) chemical analysis	51
2.1.3. The analytical scale and weighing	52
2.1.4. Material of the laboratory vessels	55
2.1.5. Volume measuring tools	57
2.1.6. Measuring solutions	61
2.1.7. Error sources of titration	62
2.2. Acid-alkalimetry, neutralization analysis	64
2.2.1. How the indicators work	64
2.2.1.1. Transition of the indicators. Indicator exponent	64
2.2.1.2. Indicator mixtures	66
2.2.1.3. The effect of the experimental conditions on the transition of indicators	67
2.2.1.4. Major acid-alkalimetric indicators	68
2.2.2. Equivalence point	69
2.2.2.1. Calculation of the equivalence point	69
2.2.3. Change of hydrogen ion concentration during titration	72
2.2.3.1. Change of the pH during titration of a strong acid and a strong base	72
2.2.3.2. Change of the pH during neutralization of a weak acid and a weak base	74
2.2.3.3. Measurement of the pH	74
2.2.4. Preparation of measuring solutions	76
2.2.4.1. Preparation of 1 M HCl and its adjustment	77
2.2.4.2. Preparation of 0.1 M HCl and its adjustment	79

2.2.4.3. Preparation of 1 M NaOH and its adjustment	80
2.2.4.4. Preparation of 0.1 M NaOH and its adjustment	81
2.2.4.5. Preparation of 0.5 M KOH alcoholic solution	82
2.2.5. Titration of strong acids	82
2.2.5.1. Determination of HCl contents of hydrochloric acid solution . .	83
2.2.5.2. Determination of HNO ₃ contents of nitric acid solution	83
2.2.5.3. Determination of H ₂ SO ₄ contents of sulphuric acid solution .	84
2.2.5.4. Determination of peroxi-disulphates	84
2.2.6. Titration of weak acids	85
2.2.6.1. Determination of CH ₃ COOH contents of acetic acid solution . .	85
2.2.6.2. Determination of acetic anhydride	86
2.2.6.3. Titration of lactic acid	86
2.2.6.4. Titration of tartaric acid and cream of tartar	87
2.2.6.5. Determination of H ₃ BO ₃ contents of boric acid and alkali borates	87
2.2.6.6. Determination of CO ₂ contents of carbonic acid solution . . .	88
2.2.6.7. Determination of phosphoric acid and alkali phosphates . . .	89
2.2.7. Titration of strong and weak bases	91
2.2.7.1. Titration of potassium hydroxide, sodium hydroxide, and calcium hydroxide solution	91
2.2.7.2. Determination of ammonia	92
2.2.8. Nitrate determination	94
2.2.9. Determination of acetylsalicylic acid (Aspirin)	95
2.3. Oxidation and reduction titration methods	96
2.3.1. Oxidation-reduction	96
2.3.2. Redoxi indicators	97
2.3.3. Permanganometry	97
2.3.4. Iodometry	98
2.3.4.1. Iodometric indicators	100
2.3.4.2. 0.1 M Na ₂ S ₂ O ₃ measuring solution	101
2.3.4.3. 0.1 M I ₂ measuring solution	103
2.3.4.4. Measurement of iodine released by oxidizing substances . .	104
2.3.4.4.1. Determination of free halogens	104
2.3.4.4.2. Determination of hypochlorites	105
2.3.4.4.3. Determination of hydrogen peroxide	106
2.3.4.4.4. Iodometric determination of permanganates	106
2.3.4.4.5. Determination of oxygen dissolved in water according to Winkler	107
2.3.4.5. Iodometric sugar determination	108
2.3.4.6. Determination of iodine number and iodine-bromine number of fats and oils	109
2.4. Precipitation titration methods	111
2.4.1. Some methods for endpoint indication of precipitation titrations .	112
2.4.2. Preparation of 0.1 M NaCl measuring solution	113
2.4.3. Preparation of 0.1 M AgNO ₃ measuring solution	114

2.4.4. Preparation of 0.1 M NH_4SCN (KSCN) measuring solution and its adjustment	114
2.4.5. Precipitation determination of silver	114
2.4.6. Determination of chloride ions	115
2.4.7. Determination of iodide ions	115
2.5. Methods based on formation of complex compounds	116
2.5.1. Complexometry. Chelatometry	116
2.5.1.1. Complexometric indicators	117
2.5.1.2. Preparation of complexon III measuring solution	118
2.5.1.3. Determination of total joint amount of calcium and magnesium. Determination of total hardness of water	119
2.5.1.4. Complexometric determination of calcium	120
2.5.1.5. Complexometric determination of iron(III) ions	120
3. Determination of foodstuff composition	121
3.1. Determination of the moisture contents	125
3.1.1. Determination of the moisture contents without preliminary drying	126
3.1.2. Determination of the moisture contents with preliminary drying	126
3.2. Determination of the mineral components	127
3.2.1. Determination of crude ash contents and of ash contents insoluble in hydrochloric acid	127
3.2.1.1. Determination of crude ash contents	127
3.2.1.2. Determination of ash contents insoluble in hydrochloric acid	128
3.2.2. Determination of mineral components by spectroscopic methods	129
3.2.2.1. Emission spectroscopy	130
3.2.2.1.1. Flame photometry	130
3.2.2.1.2. Plasma emission	131
3.2.2.2. Absorption spectroscopy	134
3.2.2.2.1. Atomic absorption photometry	134
3.2.2.2.2. Ultraviolet and visible absorption photometry	137
3.2.2.3. Infrared spectroscopy	138
3.2.2.4. Selected chapters	140
3.2.2.4.1. Examination of mineral supplementation of humans	140
3.2.2.4.2. Mineral contents of the cow's milk and their change due to inflammation of udder	141
3.2.2.4.2.1. Determination of chloride ion contents	142
3.2.2.4.2.2. Determination of sodium contents	143
3.2.2.4.2.3. Determination of mineral components of the milk	144
3.2.2.4.2.4. Determination of proportion of mastitic milk in the mixed milk on the basis of mineral contents	145
3.2.2.4.3. Determination of selenium contents by fluorimetric method	146
3.2.2.4.4. Determination of sulphur contents in foodstuffs by inductively coupled plasma emission	147

3.2.2.4.5. Application of ion-selective electrodes in the foodstuff analysis	148
3.2.2.4.5.1. Application of ion-selective electrodes	148
3.2.2.4.5.2. Determination of ammonia formed during the destruction by ion-selective electrodes	151
3.3. Determination of organic components	152
3.3.1. Determination of nitrogen and various nitrogenous materials	152
3.3.1.1. Extraction and precipitation of proteins	153
3.3.1.2. Measurement of protein contents based on nitrogen contents	155
3.3.1.3. Measurement of nitrogen contents by the Dumas method	157
3.3.1.4. The Kjeldahl method	160
3.3.1.5. Kjel-Foss automatic apparatus for the determination of nitrogen contents	163
3.3.1.6. Tecator Kjeltex protein analyser	165
3.3.1.7. Determination of true protein	167
3.3.1.8. Determination of digestible crude protein contents	168
3.3.1.8.1. Determination of digestible crude protein contents by in vitro <i>pepsin</i> hydrolysis	168
3.3.1.8.2. Determination of digestible crude protein contents by in vitro <i>pepsin-trypsin</i> hydrolysis	169
3.3.1.8.3. Multienzyme method for establishment of in vitro digestibility of proteins	169
3.3.1.8.4. Determination of in vitro digestibility of proteins by <i>pancreatin</i> hydrolysis and amino acid analysis	170
3.3.1.9. Determination of protein contents by spectrophotometric methods	171
3.3.1.9.1. Ultraviolet spectrophotometric methods	171
3.3.1.9.2. Spectrophotometric methods in the visible light range	172
3.3.1.9.2.1. The Biuret method	172
3.3.1.9.2.2. The Lowry method	174
3.3.1.9.3. Determination of protein contents by dye binding	176
3.3.1.9.3.1. The Bradford method	177
3.3.1.9.4. Other methods for protein contents determination	180
3.3.1.10. Examination of food proteins by electrophoresis and isoelectric focusing	181
3.3.1.10.1. Electrophoresis and its analytical application	181
3.3.1.10.2. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)	182
3.3.1.10.2.1. Preparation of the protein samples, layering onto the gel, and the process of electrophoresis	183
3.3.1.10.2.2. Special applications in the research of food proteins	185
3.3.1.10.3. Separation and determination of different proteins using isoelectric focusing	186
3.3.1.11. Column chromatography of proteins	187

3.3.1.11.1. Examination of proteins by adsorption column chromatography	187
3.3.1.11.2. Examination of proteins by partition column chromatography	188
3.3.1.11.3. Examination of proteins by ion-exchange column chromatography	188
3.3.1.11.3.1. Separation on ion-exchange resins	189
3.3.1.11.3.2. Separation with cellulose-based ion exchangers	189
3.3.1.11.3.3. Separations by ion-exchange gels	190
3.3.1.11.4. Examination of proteins by other chromatographic methods	190
3.3.1.12. Gel chromatography of proteins	191
3.3.1.12.1. Fundamentals of gel chromatography	191
3.3.1.13. Layer chromatography of proteins	192
3.3.1.13.1. Fundamentals of layer chromatography	192
3.3.1.13.2. Application of the layer chromatography for the examination of foodstuff proteins	193
3.3.1.14. Non-destructive protein determination	194
3.3.1.15. Determination of amino acid composition of proteins	196
3.3.1.15.1. Determination of amino acid composition by ion-exchange column chromatography	196
3.3.1.15.2. Determination of amino acid composition by high performance liquid chromatography	203
3.3.1.15.3. Photometric determination of amino acid composition	206
3.3.1.15.3.1. Determination of methionine contents	207
3.3.1.15.3.2. Determination of cysteine contents	208
3.3.1.15.3.3. Determination of tryptophan contents	210
3.3.1.15.4. Determination of utilizable lysine contents	212
3.3.1.16. Selected chapters	213
3.3.1.16.1. Determination of keratin contents of proteins of animal origin	213
3.3.1.16.2. Determination of protein of bacterial origin	214
3.3.1.16.3. Specific chromatographic methods for the determination of the individual amino acids	216
3.3.1.16.4. Separation and determination of protein fractions of milk	217
3.3.1.16.5. Detection of milk deriving from a mastitic udder on the basis of free D-amino acid contents	218
3.3.1.16.6. Determination of carbamide contents	220
3.3.2. Determination of fat contents and fatty acid composition	221
3.3.2.1. Determination of crude fat contents	221
3.3.2.2. Determination of peroxide number and acid number	222
3.3.2.3. Determination of fatty acid composition of fats by gas chromatography	224
3.3.2.3.1. Theory of the gas chromatography	224

3.3.2.3.2. Determination of fatty acid composition of sunflower oil and hog's fat	229
3.3.2.4. Selected chapters	230
3.3.2.4.1. Determination of volatile fatty acids by gas chromatography	230
3.3.2.4.2. Determination of F ₂ -toxin by gas chromatography	232
3.3.2.4.3. Determination of antioxidants (BHT)	233
3.3.2.4.4. Determination of selenium contents in biological samples by gas chromatographic technique	234
3.3.3. Determination of crude fibre and fibre fractions	235
3.3.3.1. Determination of crude fibre by the classic method	235
3.3.3.2. Determination of the fibre fractions by the Van Soest method	237
3.3.4. Determination of nitrogen free extractable materials	239
3.3.4.1. Detection and determination of sugars	240
3.3.4.1.1. Detection of aldoses by the Fehling reaction and silver mirror reaction	240
3.3.4.1.2. Determination of the total sugar contents	241
3.3.4.1.3. Separation and determination of monosaccharides by high-performance liquid chromatography	243
3.3.4.2. Starch and its determination	245
3.3.4.2.1. Experiments with starch	245
3.3.4.2.2. Determination of starch contents	246
3.3.4.3. Selected chapters	247
3.3.4.3.1. Determination of ash contents of sugar industrial end products on the basis of electrical conductivity	247
3.3.4.3.2. Molasses examinations	248
3.3.4.3.2.1. Determination of dry matter contents of molasses using manual refractometer	248
3.3.4.3.2.2. Electrometric determination of the pH of the molasses	250
3.3.4.3.2.3. Determination of total anion contents of the molasses by ion exchange	251
3.3.4.3.2.4. Photometric determination of potassium and sodium contents of the molasses flame	252
3.3.4.3.3. Examination of purity of the household starch by the polarimetric method	252
3.3.5. Determination of provitamins and vitamins	253
3.3.5.1. Determination of the carotene and xanthophyll contents ..	254
3.3.5.2. Determination of the fat-soluble vitamins	255
3.3.5.2.1. Determination of vitamin A contents by HPLC method ..	255
3.3.5.2.2. Determination of vitamin D ₃ by high-performance liquid chromatography	256
3.3.5.2.3. Determination of vitamin E (α -tocopherol) by high-performance liquid chromatography	257

3.3.5.2.4. Simultaneous determination of fat-soluble vitamins by high-performance liquid chromatography	257
3.3.5.3. Determination of the water-soluble vitamins	258
3.3.5.3.1. Determination of vitamin B ₁ (thiamin) contents by HPLC fluorimetric detection.	258
3.3.5.3.2. Determination of nicotinamide by HPLC	259
3.3.5.3.3. Determination of vitamin C contents	260
3.3.5.3.3.1. Determination of vitamin C contents by 2,6-dichloro-phenol-indophenolic titrimetry.	260
3.3.5.3.3.2. Determination of ascorbic acid contents by spectrophotometric method	261
3.3.5.3.3.3. Determination of ascorbic acid by HPLC method	262
3.3.5.3.3.4. Determination of ascorbic acid contents of milk	263
3.3.5.3.4. Determination of vitamin U contents using automatic amino acid analyser	264
3.3.5.3.5. Determination of carnitine by photometry	264
3.3.6. Mycotoxins and their determination	265
3.3.6.1. General features of mycotoxins	265
3.3.6.2. Conditions of mycotoxin formation	265
3.3.6.3. Physical, chemical, and biological properties of the mycotoxins	266
3.3.6.4. Determination of mycotoxins using chemical methods.	267
3.3.6.4.1. Examination of F ₂ -toxin contents by thin-layer chromatography	267
3.3.6.4.2. Determination of the F ₂ -toxin by gas chromatography	268
3.3.7. Selected chapters	269
3.3.7.1. Determination of the trypsin inhibitor activity of soya and soya products	269
3.3.7.2. Determination the urease activity of soya	270
3.3.7.3. Determination of the extent of heat treatment of the soya by cresol red dye-binding test	271
3.3.8. Using stable isotopes for the identification of the counterfeit food	272
4. In general about food falsification	275
4.1. Are the foods sophisticated nowadays?	275
4.2. Food sophistication and its legal background	277
4.2.1. What is food sophistication?	277
4.2.2. How can food falsification be overcome?	278
4.2.3. What kind of official measures may be taken at the discovery of food sophistication?	278
4.2.4. What kind of penalties may be taken in the case of food sophistication?	278
4.2.5. National organizations against food sophistication	279
4.2.6. National strategy against food sophistication	280
4.2.7. What kind of advantages can be expected from actions against food sophistication?	282
4.2.8. Some examples from the topic of food sophistication	282
4.2.9. Can food sophistication be punished?	285

5. Special food sophistication cases and the demonstration of sophistication	287
5.1. Sophistication of milk and dairy products	287
5.1.1. Milk from different animals and their sophistication	287
5.1.1.1. Sophistication of buffalo's milk with cow's milk	289
5.1.1.2. Sophistication of mother's milk with different types of milk	290
5.1.2. Soy milk in cow's milk	291
5.1.3. Demonstration of the whey and buttermilk	292
5.1.4. Whey protein in dairy products	293
5.1.5. Reconstituted milk from milk powder	294
5.1.6. Other possibilities of adulteration of milk and dairy products	294
5.1.6.1. Other fats in milk, butter, and ghee	295
5.1.6.2. Demonstration of the dilution of milk with water	298
5.1.7. Determination of heat treatment of milk and dairy products	300
5.1.7.1. Demonstration of the peroxidase enzyme by Storch trial	300
5.1.7.2. Determination of the quantity of phosphatase enzyme by the reaction of 2,6-dibromoquinone-chlorimide-phenol reaction	301
5.1.7.3. Demonstration of the phosphatase enzyme by hydrogene-orto-krezolphtalein-phosphate	301
5.1.8. Determination of the quantity of milk from inflamed udder	302
5.1.9. Demonstration of the decayed milk which is unsuitable for consumption	303
5.2. Sophistication of meat and meat products	304
5.2.1. Identification of meat from different species	305
5.2.1.1. Electrophoresis	305
5.2.1.2. Polyacrilamid-gelelectrophoresis	306
5.2.1.3. Polyacrilamid-gelelectrophoresis isoelectric focusing	306
5.2.1.4. Polyacrilamid-gelelectrophoresis with sodium-dodecil-sulphate	307
5.2.1.5. Immunological methods	307
5.2.2. Other methods for the demonstration of meat sophistication	310
5.2.2.1. Fat and fatty acid analysis	311
5.2.2.2. Analysis of minerals	312
5.2.2.3. Using biochemical indexes in meat sophistication	312
5.2.3. Determination of the freshness of meat	313
5.2.3.1. Analysis of the decomposition products of protein	313
5.2.3.2. Analysis of the volatile basis	314
5.2.3.3. Determination of the amino nitrogen and free amino acids	314
5.2.3.4. Measurements of amines	315
5.2.3.5. Determination of the indole	316
5.2.3.6. Analysis of the decomposition products of fat	316
5.2.3.7. Decomposition products of nucleic acids	317
5.2.3.8. Other methods for the demonstration of the rankness of meat	317
5.2.4. Instrumental analysis of the quality of meat and fish	318
5.2.5. Qualifying the foods made from meat	318
5.2.5.1. Demonstration of the contaminants in flesh foods	319

5.2.5.2. Determination of the quality of minced meat	320
5.2.6. Meat additives and accessories	320
5.3. Food grains, contaminants, and the demonstration of sophistication . .	321
5.3.1. Contaminants in grain	322
5.3.1.1. Different mixed grains	322
5.3.2. Differentiation of the rice varieties	324
5.3.3. Grains, legumes, and their blends	325
5.3.4. Qualifying indices for wheat and other flours	325
5.3.5. Methods for the determination of the microbial quality of grains and grain products	326
5.4. Fruits, vegetables, and their products	328
5.4.1. Examinations for the qualification of fruit and vegetable juices .	329
5.4.1.1. Organic acids and other accessories	331
5.4.2. Demonstration of shell homogenizate from lemon and orange juices	333
5.4.3. Dilution of fruit juices with water	333
5.4.4. Vitamins	335
5.4.5. Analysis of stabile isotopes	336
5.4.6. Demonstration of the mixing of different fruit juices	336
5.4.7. Parameters indicating the degree of maturation and depravity of fruits	340
5.5. Edible oils and fats	341
5.5.1. Indicators measuring changes during storage	342
5.5.2. Indicators demonstrating the heat treatment of oils	343
5.5.3. Toxic contaminants, and adulterants	344
5.5.4. Methods for demonstration of the admixtures, blends, contaminants and adulterants of one fat in another	345
5.5.5. Demonstration of the blends of vegetable oils and fats from marine and animal origin	348
5.5.6. Other contaminants in fats and oils	348
5.5.7. Special components for demonstrating each oil	349
5.5.8. Analysis of the blend's animal fats	349
5.6. Investigation of the changes in the quality during food processing . .	349
5.6.1. The effect of heat treatment for the composition of food	350
5.6.2. Chemical markers for the demonstration of heat treatment	354
5.6.3. Differentiation of the frozen and thawed foods	355
5.6.4. Indices for the demonstration of the changes during storage . . .	356
5.6.5. Indices for marking the irradiation of the foods	357
5.7. Examples for food adulteration from the recent years	360
5.7.1. Adulteration of the baby formulas with melamine and its demonstration	360
5.7.2. Adulteration of the taumatins sweetener and the methods capable for demonstration	363
5.7.3. Effect of the dioxin content of foods for the human body and its demonstration	370
5.7.4. Adulteration of the honey and its demonstration	373

5.8. The wine and the adulteration of the wine.	380
5.8.1. Chemical composition of the grape, must, and wine	380
5.8.1.1. Biochemistry of the maturation of grape	380
5.8.1.2. Chemical composition of the must.	383
5.8.1.3. Biochemistry of fermentation	393
5.8.1.4. The chemical composition of the wine	395
5.8.1.5. Chemistry of wine development.	403
5.8.2. Adulteration of the wine.	404
5.8.2.1. Definition of wine adulteration.	404
5.8.2.2. Historic overview of wine adulteration	405
5.8.2.3. Contemporary methods for detecting adulterated wines . . .	406
5.8.2.4. The current position of wine adulteration	407
5.8.2.5. Some methods for the demonstration of wine adulteration by instrumental analytical chemical methods	409
5.9. The schnapps and the adulteration of the schnapps	410
5.9.1. Definition of the schnapps	410
5.9.2. History of the schnapps	410
5.9.3. Grouping of the ardent spirits	412
5.9.4. Raw material of the schnapps, quality requirements	412
5.9.5. Technology of schnapps making	413
5.9.5.1. Taking over and qualification of basic materials	413
5.9.5.2. Mashing	414
5.9.5.3. Distillation	417
5.9.5.4. Tankage, maturation and blending of schnapps	419
5.9.5.5 Design of flavour and scent content of schnapps, savour of schnapps.	420
5.9.6. Controlled appellations schnapps, different ardent spirits	422
5.9.7. Quality of schnapps, option of adulteration	423
5.9.7.1. Methanol content of schnapps	424
5.9.7.2. Ethyl-carbamate content of schnapps	425
5.9.7.3. Other, harmful to health materials in schnapps	427
Literature	429
Abstracts	433
About the authors	437
Appendix	439
The atomic number, symbol, and atomic mass of the elements	439
The periodical table of the elements	441

Cuprins

Introducere	35
1. Chimie analitică calitativă	39
1.1. Chimie analitică calitativă	39
1.2. Cursul analizei chimice calitative	40
1.2.1. Detectarea cationilor în timpul analizei anorganice	41
1.2.2. Detectarea anionilor în timpul analizei anorganice	41
1.2.3. Testul colorării flăcării	42
1.3. Detectarea unor importanți cationi și anioni	43
1.4. Examinări specifice pentru detectarea componentilor din alimente	47
1.4.1. Detectarea ionilor de nitrați din apă potabilă	47
1.4.2. Detectarea arsenului	47
1.4.3. Detectarea amoniei cu reactiv Nessler	48
1.4.4. Detectarea râncezirii uleiurilor și grăsimilor cu reacția Kreiss	48
1.4.5. Detectarea urmelor de metale	49
1.4.6. Detectarea carbamidei din alimente	49
2. Chimie analitică cantitativă	51
2.1. Introducere în chimia analitică cantitativă	51
2.1.1. Chimie analitică cantitativă	51
2.1.2. Volumetrie (titrimetrie)	51
2.1.3. Balanța analitică și măsurarea	52
2.1.4. Materialul vaselor de laborator	55
2.1.5. Instrumente pentru măsurarea volumului	57
2.1.6. Soluții titrate (etalon)	61
2.1.7. Surse de eroare în cursul titrării	62
2.2. Acidi-alcalimetrie, analiză neutralizantă	64
2.2.1. Funcționarea indicatorilor	64
2.2.1.1. Intervalul de viraj al indicatorilor. Exponent de indicator	64
2.2.1.2. Mixturi de indicatori	66
2.2.1.3. Efectele condiției experimentale la virarea indicatorului	67
2.2.1.4. Indicatori majori acidi-alcalimetrici	68
2.2.2. Punctul de echivalență	69
2.2.2.1. Calcularea punctului de echivalență	69
2.2.3. Scimbarea concentrației de ioni de hidrogen în timpul titrării	72
2.2.3.1. Schimbarea pH-ului în timpul titrării unui acid tare și o bază tare	72
2.2.3.2. Schimbarea pH-ului în timpul neutralizării unor acizi slabi cu baze slabe	74
2.2.3.3. Măsurarea pH-ului	74
2.2.4. Prepararea soluțiilor etalon	76
2.2.4.1. Prepararea de HCl 1 M și ajustarea ei	77
2.2.4.2. Prepararea de HCl 0.1 M și ajustarea ei	79
2.2.4.3. Prepararea de NaOH 1 M și ajustarea ei	80

2.2.4.4. Prepararea de NaOH 0.1 M și ajustarea ei	81
2.2.4.5. Prepararea soluției alcoolice de KOH 0.5 M	82
2.2.5. Titrarea acizilor tari	82
2.2.5.1. Determinarea conținutului în HCl a soluției de acid clorhidric	83
2.2.5.2. Determinarea conținutului în HNO ₃ a soluției de acid azotic	83
2.2.5.3. Determinarea conținutului în H ₂ SO ₄ a soluției de acid sulfuric	84
2.2.5.4. Determinarea peroxi-disulfatului	84
2.2.6. Titrarea acizilor slabi	85
2.2.6.1. Determinarea conținutului în CH ₃ COOH a soluției de acid acetic	85
2.2.6.2. Determinarea anhidridei acetice	86
2.2.6.3. Titrarea acidului lactic	86
2.2.6.4. Titrarea acidului tartric și a sosului tartar	87
2.2.6.5. Determinarea conținutului în H ₃ BO ₃ a soluției de acid boric a alcaliboraiilor	87
2.2.6.6. Determinarea conținutului în CO ₂ a soluției de acid carbonic	88
2.2.6.7. Determinarea acidului fosforic și a fosfaților alcalici	89
2.2.7. Titrarea bazelor tari și slabe	91
2.2.7.1. Titrarea soluțiilor de hidroxid de potasiu, hidroxid de sodiu și hidroxid de calciu	91
2.2.7.2. Determinarea amoniei	92
2.2.8. Determinarea nitraților	94
2.2.9. Determinarea acidului acetilsalicilic (Aspirină)	95
2.3. Titrări redox	96
2.3.1. Oxidare-reducție	96
2.3.2. Redoxi indicatori	97
2.3.3. Permanganometrie	97
2.3.4. Iodometrie	98
2.3.4.1. Indicatori iodometrici	100
2.3.4.2. Soluție de titrare Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 M	101
2.3.4.3. Soluție de titrare I ₂ 0.1 M	103
2.3.4.4. Măsurarea iodului eliberat de substanțe oxidante	104
2.3.4.4.1. Determinarea halogenilor liberi	104
2.3.4.4.2. Determinarea hipocloriților	105
2.3.4.4.3. Determinarea peroxidului de hidrogen	106
2.3.4.4.4. Determinarea iodometrică a permanganatului	106
2.3.4.4.5. Determinarea oxigenului dizolvat în apă în acord cu Winkler	107
2.3.4.5. Determinarea iodometrică a zahărului	108
2.3.4.6. Determinarea indicelui de iod și a indicelui de iodbrom la grăsimi și uleiuri	109

2.4. Titrarea cu precipitare	111
2.4.1. Câteva metode pentru indicarea punctului de terminare la titrarea cu precipitare	112
2.4.2. Prepararea soluției de titrare NaCl 0.1 M.	113
2.4.3. Prepararea soluției de titrare AgNO ₃ 0.1 M	114
2.4.4. Prepararea soluției de titrare NH ₄ SCN (KSCN) 0.1 M și ajustarea ei	114
2.4.5. Determinarea argintului cu precipitare	114
2.4.6. Determinarea ionilor de clor	115
2.4.7. Determinarea ionilor de iod	115
2.5. Metode bazate pe formare de complecși	116
2.5.1. Complexometrie. Chelatometrie	116
2.5.1.1. Indicatori complexometrici	117
2.5.1.2. Prepararea soluției de titrare Komplexon(III)	118
2.5.1.3. Determinarea conținutului total de calciu și magneziu. Determinarea durtății totale a apei	119
2.5.1.4. Determinarea complexometrică a calciului	120
2.5.1.5. Determinarea complexometrică a ionilor de fier(III)	120
3. Determinarea componentilor din alimente	121
3.1. Determinarea conținutului de umiditate	125
3.1.1. Determinarea conținutului de umiditate fără preuscare	126
3.1.2. Determinarea conținutului de umiditate cu preuscare	126
3.2. Determinarea componentelor minerale	127
3.2.1. Determinarea cenușii crude și a cenușii insolubile în acid clorhidric.	127
3.2.1.1. Determinarea cenușii crude	127
3.2.1.2. Determinarea cenușii insolubile în acid clorhidric	128
3.2.2. Determinarea componentelor minerale prin metode spectroscopice.	129
3.2.2.1. Spectroscopie cu emisie	130
3.2.2.1.1. Fotometrie în flacără.	130
3.2.2.1.2. Emisie de plasmă	131
3.2.2.2. Spectroscopie de absorbție	134
3.2.2.2.1. Fotometrie de absorbție atomică	134
3.2.2.2.2. Fotometrie de absorbție UV-VIS.	137
3.2.2.3. Spectroscopie în infraroșu	138
3.2.2.4. Capitole selectate.	140
3.2.2.4.1. Examinarea mineralelor suplimentare la om	140
3.2.2.4.2. Conținutul în minerale a laptelui de vacă și schimbarea acestuia în timpul inflamației ugerului.	141
3.2.2.4.2.1. Determinarea conținutului de ioni de clor	142
3.2.2.4.2.2. Determinarea conținutului de sodiu	143
3.2.2.4.2.3. Determinarea conținutului de minerale în lapte	144
3.2.2.4.2.4. Determinarea proporției de lapte mastitic din mixturi de lapte pe baza conținutului de minerale.	145

3.2.2.4.3. Determinarea seleniului prin metoda fluorimetrică	146
3.2.2.4.4. Determinarea conținutului de sulf a alimentelor cu emisie de plasmă cuplată inductiv	147
3.2.2.4.5. Aplicarea electrozilor ionselectivi în analiza alimentelor	148
3.2.2.4.5.1. Aplicarea electrozilor ionselectivi	148
3.2.2.4.5.2. Determinarea amoniei formate prin destrucție de către electrozi ionselectivi	151
3.3. Determinarea componentelor organici	152
3.3.1. Determinarea nitrogenului și a materialelor nitrogenoase	152
3.3.1.1. Extracția și precipitarea proteinelor	153
3.3.1.2. Măsurarea conținutului de proteine pe baza conținutului de nitrogen	155
3.3.1.3. Măsurarea conținutului de nitrogen prin metoda Dumas . . .	157
3.3.1.4. Metoda Kjeldahl	160
3.3.1.5. Aparatul automat Kjel-Foss pentru determinarea nitrogenului	163
3.3.1.6. Analizatorul de proteine Kjeltex	165
3.3.1.7. Determinarea proteinei reale	167
3.3.1.8. Determinarea conținutului de proteină crudă digestibilă . . .	168
3.3.1.8.1. Determinarea conținutului de proteină crudă digestibilă prin hidroliză <i>pepsinică in vitro</i>	168
3.3.1.8.2. Determinarea conținutului de proteină crudă digestibilă prin hidroliză <i>pepsinică-tripsinică in vitro</i>	169
3.3.1.8.3. Metodă multienzimică pentru stabilirea digestibilității <i>in vitro</i> a proteinelor	169
3.3.1.8.4. Determinarea digestibilității <i>in vitro</i> a proteinelor prin hidroliza cu <i>pancreatină</i> și analiza aminoacizilor	170
3.3.1.9. Determinarea conținutului de proteine prin metoda spectrofotometrică	171
3.3.1.9.1. Metoda UV spectrofotometrică	171
3.3.1.9.2. Metoda spectrofotometrică în lumina vizibilă	172
3.3.1.9.2.1. Metoda Biuret	172
3.3.1.9.2.2. Metoda Lowry	174
3.3.1.9.3. Determinarea conținutului de proteine prin metoda colorimetrică	176
3.3.1.9.3.1. Metoda Bradford	177
3.3.1.9.4. Alte metode pentru determinarea conținutului de proteine	180
3.3.1.10. Examinarea proteinelor alimentare prin electroforeză și focusare izoelectrică	181
3.3.1.10.1. Electroforeza și aplicațiile ei analitice	181
3.3.1.10.2. Poliacrilamid gel electroforeză (PAGE)	182
3.3.1.10.2.1. Prepararea probelor de proteine, stratificare în gel, și procesul electroforetic	183

3.3.1.10.2.2. Aplicațiile speciale în cercetarea proteinelor din alimente	185
3.3.1.10.3. Separarea și determinarea diferitelor proteine folosind focusarea izoelectrică	186
3.3.1.11. Cromatografia de coloană a proteinelor	187
3.3.1.11.1. Examinarea proteinelor prin cromatografia de absorbție pe coloană	187
3.3.1.11.2. Examinarea proteinelor prin cromatografia de partiție pe coloană	188
3.3.1.11.3. Examinarea proteinelor prin cromatografia de schimb ionic	188
3.3.1.11.3.1. Separarea pe rășine schimbătoare de ioni	189
3.3.1.11.3.2. Separarea cu schimbători de ioni pe bază de celuloză	189
3.3.1.11.3.3. Separarea pe geluri schimbătoare de ioni	190
3.3.1.11.4. Examinarea proteinelor folosind alte metode cromatografice	190
3.3.1.12. Cromatografia de gel a proteinelor	191
3.3.1.12.1. Fundamentele cromatografiei de gel	191
3.3.1.13. Cromatografia de strat subțire a proteinelor	192
3.3.1.13.1. Fundamentele cromatografiei de strat subțire	192
3.3.1.13.2. Aplicarea cromatografiei de strat subțire pentru examinarea proteinelor alimentare	193
3.3.1.14. Determinări nedestructive ale proteinelor	194
3.3.1.15. Determinarea compoziției de aminoacizi a proteinelor ...	196
3.3.1.15.1. Determinarea aminoacizilor cu cromatografia de coloană cu schimb ionic	196
3.3.1.15.2. Determinarea aminoacizilor prin cromatografia lichidă de înaltă performanță	203
3.3.1.15.3. Determinarea aminoacizilor prin metoda fotometrică ..	206
3.3.1.15.3.1. Determinarea conținutului de metionină	207
3.3.1.15.3.2. Determinarea conținutului de cisteină	208
3.3.1.15.3.3. Determinarea conținutului de triptofan	210
3.3.1.15.4. Determinarea conținutului de lizină utilizabilă	212
3.3.1.16. Capitole selectate	213
3.3.1.16.1. Determinarea conținutului de keratină a proteinelor de origine animală	213
3.3.1.16.2. Determinarea proteinelor de origine bacteriană	214
3.3.1.16.3. Metode cromatografice specifice pentru determinarea individuală a aminoacizilor	216
3.3.1.16.4. Separarea și determinarea fracției de proteine din lapte	217
3.3.1.16.5. Detectarea laptelui provenit de la uger mastitic prin baza conținutului de D aminoacizi liberi	218
3.3.1.16.6. Determinarea conținutului de carbamidă	220

3.3.2. Determinarea conținutului de grăsimi și de acizi grași	221
3.3.2.1. Determinarea conținutului de grăsime crudă	221
3.3.2.2. Determinarea indicelui de peroxid și a indicelui de aciditate	222
3.3.2.3. Determinarea compoziției de acizi grași a grăsimilor prin cromatografia de gaze	224
3.3.2.3.1. Teoria cromatografiei de gaze.	224
3.3.2.3.2. Determinarea compoziției de acizi grași a uleiului de floarea soarelui și a grăsimii de porc	229
3.3.2.4. Capitole selectate	230
3.3.2.4.1. Determinarea acizilor grași volatili prin cromatografia de gaze	230
3.3.2.4.2. Determinarea F_2 -toxinei prin cromatografie de gaze	232
3.3.2.4.3. Determinarea antioxidanților (BHT)	233
3.3.2.4.4. Determinarea conținutului de seleniu a probelor biologice prin tehnica cromatografiei de gaze	234
3.3.3. Determinarea fibrelor crude și a fracțiilor de fibre	235
3.3.3.1. Determinarea fibrelor crude prin metoda clasică	235
3.3.3.2. Determinarea fracțiilor de fibre prin metoda Van Soest	237
3.3.4. Determinarea materialelor extractabile fără conținut de nitrogen	239
3.3.4.1. Detectarea și determinarea zaharurilor	240
3.3.4.1.1. Detectarea aldozelor cu reacția Fehling și reacția oglindei de argint	240
3.3.4.1.2. Determinarea conținutului total de zaharuri	241
3.3.4.1.3. Separarea și determinarea monozaharidelor prin cromatografia lichidă de înaltă performanță.	243
3.3.4.2. Amidonul și determinarea lui	245
3.3.4.2.1. Experimente cu amidon	245
3.3.4.2.2. Determinarea conținutului de amidon	246
3.3.4.3. Capitole selectate	247
3.3.4.3.1. Determinarea conținutului de cenușă în zahărul industrial și în produse zaharoase pe baza conductivității electrice	247
3.3.4.3.2. Examinarea melasei	248
3.3.4.3.2.1. Determinarea substanței uscate din melasă folosind refractometrul de mână	248
3.3.4.3.2.2. Determinarea electrometrică a pH-ului melasei	250
3.3.4.3.2.3. Determinarea conținutului total de anioni a melasei prin cromatografia de schimb ionic	251
3.3.4.3.2.4. Determinarea conținutului de potasiu și sodiu a melasei prin fotometrie de flacără	252
3.3.4.3.3. Examinarea purității amidonului menajer prin metoda polarimetrică	252
3.3.5. Determinarea provitaminelor și a vitaminelor.	253
3.3.5.1. Determinarea carotinei și a xantofilei	254
3.3.5.2. Determinarea vitaminelor solubile în grăsimi	255

3.3.5.2.1. Determinarea conținutului de vitamina A prin metoda HPLC	255
3.3.5.2.2. Determinarea vitaminei D ₃ prin cromatografia lichidă de înaltă performanță	256
3.3.5.2.3. Determinarea vitaminei E (α -tocoferol) prin cromatografia lichidă de înaltă performanță	257
3.3.5.2.4. Determinarea simultană a vitaminelor solubile în grăsimi prin cromatografia lichidă de înaltă performanță	257
3.3.5.3. Determinarea vitaminelor solubile în apă	258
3.3.5.3.1. Determinarea conținutului de vitamina B ₁ (tiamin) prin HPLC cu detectare fluorimetrică	258
3.3.5.3.2. Determinarea nicotinamidei prin HPLC	259
3.3.5.3.3. Determinarea conținutului de vitamina C	260
3.3.5.3.3.1. Determinarea conținutului de vitamina C prin titrimetrie cu 2,6-dicloro-fenol-indofenol	260
3.3.5.3.3.2. Determinarea conținutului de acid ascorbic cu metoda spectrofotometrică	261
3.3.5.3.3.3. Determinarea acidului ascorbic prin metoda HPLC.	262
3.3.5.3.3.4. Determinarea conținutului de acid ascorbic a laptelui	263
3.3.5.3.4. Determinarea conținutului de vitamina U folosind analizatorul automat de aminoacid	264
3.3.5.3.5. Determinarea carnitinei prin fotometrie	264
3.3.6. Micotoxinele și determinarea lor	265
3.3.6.1. Trăsăturile generale a micotoxinelor	265
3.3.6.2. Condițiile formării micotoxinei	265
3.3.6.3. Proprietățile fizice, chimice și biologice a micotoxinelor	266
3.3.6.4. Determinarea micotoxinelor folosind metode chimice	267
3.3.6.4.1. Examinarea conținutului de F ₂ -toxină cu cromatografia de strat subțire	267
3.3.6.4.2. Determinarea F ₂ -toxinei cu cromatografie de gaze	268
3.3.7. Capitole selectate	269
3.3.7.1. Determinarea activității inhibitorului de tripsină din soia și produsele de soia	269
3.3.7.2. Determinarea ureazei active din soia	270
3.3.7.3. Determinarea expunerii tratamentului termic a soiei cu colorare cu roșu de crezol	271
3.3.8. Utilizarea izotopilor stabili în depistarea falsurilor alimentare	272
4. În general despre falsificarea alimentelor	275
4.1. Sunt falsificate alimentele în zilele noastre?	275
4.2. Falsificarea alimentelor și cadrul juridic	277
4.2.1. Ce este falsificarea alimentelor?	277
4.2.2. Cum se luptă împotriva falsificării alimentelor?	278
4.2.3. Ce măsuri de reglementare ar putea fi luate în caz de detectare a falsificării?	278

4.2.4. Ce sancțiuni pot fi luate în caz de falsificare?	278
4.2.5. Organizațiile naționale de combatere a falsificării	279
4.2.6. Strategia națională împotriva falsificării alimentelor	280
4.2.7. Ce beneficii pot fi așteptate din acțiunile împotriva falsificării produselor alimentare?	282
4.2.8. Câteva exemple din capitolul falsificării alimentelor	282
4.2.9. Se pedepsește falsificarea?	285
5. Cazuri speciale de falsificarea alimentelor și decelarea falsificării. . . .	287
5.1. Falsificarea laptelui și a produselor lactate	287
5.1.1. Lapte de la diferite specii și falsificarea lor	287
5.1.1.1. Falsificarea laptelui de bivoliță cu lapte de vacă	289
5.1.1.2. Falsificarea laptelui matern cu diferite tipuri de lapte	290
5.1.2. Lapte de soia în laptele de vacă	291
5.1.3. Decelarea zerului	292
5.1.4. Proteine din zer în produsele lactate	293
5.1.5. Lapte reconstituit din lapte praf	294
5.1.6. Alte posibilități de alterare a laptelui și a produselor lactate	294
5.1.6.1. Grăsimi străine în lapte, unt și ghee	295
5.1.6.2. Determinarea diluării laptelui cu apă	298
5.1.7. Autenticarea produselor lactate care provin din lapte procesat termic	300
5.1.7.1. Identificarea peroxidazei prin proba Storch	300
5.1.7.2. Determinarea cantității enzimei fosfataze prin reacția cu 2,6,-dibromochinona-clorimid-fenol	301
5.1.7.3. Identificarea enzimei fosfataze prin reacția cu hidrogen- orto-crezoltaleina-fosfat	301
5.1.8. Determinarea cantității laptelui provenit de la vaci cu mamite	302
5.1.9. Decelarea laptelui stricat, care nu este potrivit pentru consum	303
5.2. Falsificarea cărnii și a produselor din carne	304
5.2.1. Identificarea cărnii de la diferite specii	305
5.2.1.1. Electroforeza	305
5.2.1.2. Poliacrilamid-gelelectroforeza	306
5.2.1.3. Poliacrilamid-gelelectroforeza cu focusare izoelectrică	306
5.2.1.4. Poliacrilamid-gelelectroforeza cu SDS	307
5.2.1.5. Metode imunologice	307
5.2.2. Alte metode pentru decelarea falsificării cărnii	310
5.2.2.1. Analiza grăsimii și a acizilor grași	311
5.2.2.2. Analiza mineralelor	312
5.2.2.3. Utilizarea indecșilor biochimici	312
5.2.3. Determinarea prospețimii cărnii	313
5.2.3.1. Analiza denaturării proteinelor	313
5.2.3.2. Analiza bazelor volatile	314
5.2.3.3. Determinarea amino-nitrogenului și a aminoacizilor liberi	314
5.2.3.4. Măsurarea aminelor	315
5.2.3.5. Determinarea indolului	316
5.2.3.6. Analiza descompunerii grăsimilor	316

5.2.3.7. Descompunerea acizilor nucleici	317
5.2.3.8. Metode pentru recunoașterea cărnii alterate	317
5.2.4. Analiza instrumentală a cărnii și a peștelui	318
5.2.5. Calificarea alimentelor pe bază de carne	318
5.2.5.1. Demonstrarea contaminanților în produsele alimentare din carne	319
5.2.5.2. Determinarea calității cărnii tocate	320
5.2.6. Aditivi de carne și accesorii	320
5.3. Cereale alimentare, contaminanți și demonstrarea falsificării	321
5.3.1. Contaminanții din cereale	322
5.3.1.1. Diferite mixturi de cereale.	322
5.3.2. Diferențierea variației orezului	324
5.3.3. Grâul și speciile lui	325
5.3.4. Calificarea făinii	325
5.3.5. Metode de determinarea calității microbiale a cerealelor și a produselor cerealiere	326
5.4. Fructe, legume și produse din ele	328
5.4.1. Autentificarea sucurilor de fructe și de legume	329
5.4.1.1. Conținutul de acizi organici	331
5.4.2. Decelarea falsificării a sucului de lămâie și a sucului de portocale	333
5.4.3. Diluarea sucurilor de fructe cu apă	333
5.4.4. Vitamine	335
5.4.5. Analiza izotopilor stabili	336
5.4.6. Decelarea impurificării cu sucuri străine ale altor fructe	336
5.4.7. Parametrii ce indică degradarea fructelor	340
5.5. Uleiuri și grăsimi	341
5.5.1. Indicatorii de măsurare a schimbării în timpul depozitării	342
5.5.2. Indicatorii care demonstrează tratamentul termic al uleiurilor	343
5.5.3. Contaminanți toxici	344
5.5.4. Metode de autentificarea a uleiurilor și de identificarea a falsificărilor	345
5.5.5. Diferențierea uleiurilor vegetale de grăsimi vegetabile, de mare și de origine animale.	348
5.5.6. Alți contaminanți din grăsimi și uleiuri	348
5.5.7. Autentificarea uleiurilor	349
5.5.8. Analiza grăsimilor animale	349
5.6. Investigarea schimbărilor calității alimentelor în timpul procesării	349
5.6.1. Efectul tratamentului termic asupra compoziției alimentelor	350
5.6.2. Markerii chimici pentru demonstrarea tratamentului termic	354
5.6.3. Diferențierea alimentele congelate și decongelate.	355
5.6.4. Indici pentru demonstrarea modificărilor în timpul depozitării	356
5.6.5. Indici pentru marcarea iradierii alimentelor	357
5.7. Exemple de fasificarea a alimentelor în ultimii ani	360
5.7.1. Falsificarea formulelor pentru bebeluși cu melamină	360

5.7.2. Falsificarea îndulcitorului thaumatin și metode pentru demonstrarea falsificării	363
5.7.3. Efectele dioxinei din alimente asupra corpului uman	370
5.7.4. Falsificarea mierii și decelarea falsificării	373
5.8. Vinul și falsificarea vinului	380
5.8.1. Compoziția chimică a strugurilor, a mustului și a vinului	380
5.8.1.1. Procese biochimice în timpul maturării	380
5.8.1.2. Compoziția chimică a mustului	383
5.8.1.3. Biochimia fermentării	393
5.8.1.4. Compoziția chimică a vinului	395
5.8.1.5. Chimia producerii vinului	403
5.8.2. Falsificarea vinului	404
5.8.2.1. Definiția falsificării vinului	404
5.8.2.2. Istoria falsificării vinului	405
5.8.2.3. Metode convenționale de depistare a falsurilor alimentare.	406
5.8.2.4. Poziția actuală a falsificării vinului	407
5.8.2.5. Diverse tehnici instrumentale pentru decelarea falsificării vinului	409
5.9. Pălincă și falsificarea ei	410
5.9.1. Definiția pălincii	410
5.9.2. Istoria pălincii	410
5.9.3. Gruparea tipurilor de pălincă	412
5.9.4. Materii prime, cerințe privind calitatea	412
5.9.5. Tehnologia preparării pălincii	413
5.9.5.1. Primirea și certificarea materiilor prime.	413
5.9.5.2. Procedul de brasaj	414
5.9.5.3. Distilarea	417
5.9.5.4. Stocarea, coacerea, domesticirea pălincii.	419
5.9.5.5. Stabilirea gustului și aromei, arome de pălincă	420
5.9.6. Pălinci de origine protejată, diferite tipuri de pălinci	422
5.9.7. Calitatea pălincii, posibilitățile falsificării	423
5.9.7.1. Conținutul de alcool metilic	424
5.9.7.2. Conținutul de carbat de etil	425
5.9.7.3. Alte substanțe nocive în pălincă.	427
Bibliografie utilizată și recomandată	429
Abstract	433
Rezumat	435
Despre autori.	437
Anexe	439
Numărul atomic, simbolul și masa atomică a elementelor	439
Tabelul periodic al elementelor	441

Bevezetés

Amióta az emberiség elkezdett élelmiszereket termelni, az élelmiszer-termeléssel együtt megjelent az élelmiszer-hamisítás is. Az élelmiszer-hamisítás legelső írásos emlékei az ókorból maradtak ránk, amikor is Hammurápi törvényei tiltották a gyenge minőségű vagy a túlzottan drága sörök árusítását, és aki ezeket a törvényeket megszegte, komoly büntetésre számíthatott – akár az életébe is kerülhetett. Írásos emlékeink vannak arról, hogy a Római Birodalomban hamisították, elsősorban vizezték a bort, amit ugyancsak szigorúan büntettek. Napjainkban a lelketlen élelmiszer-termelők és kereskedők szinte mindent hamisítanak, ezért a szakemberek a hamisítással párhuzamosan olyan eljárásokat is kidolgoztak, amelyek alkalmasak hamis élelmiszerek kimutatására, a hamisítás tényéről adnak információt.

Az újabb korokban hamisították például a tejet, hisz annak a vizezése, a víz olcsó és könnyen elérhető volta miatt, egyszerűen megvalósítható. Angliában az 1800-as éveket megelőzően a tej kútvízzel történő hamisítása napi gyakorlat volt, ami csak akkor szorult vissza, amikor az 1800-as évek végén olyan kémiai módszereket dolgoztak ki, amelyekkel a tejhamisítást ki tudták mutatni. A tejhamisítás ma sem szünetel, hisz ismereteink szerint bizonyos országokban és vidékeken napi gyakorlat a vizezés elfedése só hozzáadásával, esetenként étolajat és detergenset adnak a tejhez, annak zsírtartalmának megnövelésére.

Ugyancsak jelentős mennyiségben hamisítják a tejből készült és rendkívül drága sajtokat. Az első hamisítást az Egyesült Államokban mutatták ki az 1870-es években, amikor rájöttek, hogy a jó minőségű wisconsinai sajtokat olcsó zsírokkal, például disznózsírral hamisították, azok tömegének megnövelése céljából. Mióta a hamisítás ténye kiderült, az ilyen sajtok exportja visszaesett, elvesztették jó hírüket, melynek visszaszerzése hosszú évtizedeket vett igénybe. A hamisítás ténye ma sem szűnt meg, hisz a nagyon drága sajtokat ma is próbálják utánozni, holott ezek minősége meg sem közelíti az esetenként több évig érlelt, kiváló minőségű, éppen ezért keresett és nagyon drága sajtokat.

Jelen könyvünk a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem Csíkszeredai Karának hallgatói számára készült. Reményeink szerint e könyvet a leendő élelmiszer-mérnökök mind a BSc-, mind az MSc-képzés során hasznosítani tudják, sőt talán a leendő új szakok hallgatóinak is segítségére lesz tanulmányaik során. A könyv megírásakor figyelemmel kellett lenni a karon kialakult hagyományokra, hogy a könyvben szereplő analitikai módszerek kapcsolódjanak az egyéb tárgyak keretében oktatott anyaghoz, ezért egy olyan könyvet szerettünk volna írni, melyet a hallgatók több tárgy gyakorlati oktatása során is hasznosítani tudnak.

A könyv első három fejezetével az volt a célunk, hogy a hallgatók megismerjék azokat az analitikai kémiai módszereket, melyeket az élelmiszer-hamisítás

kimutatására használnak a mindennapi gyakorlatban. A könyv rövid minőségi kémiai analízissel indul, melyet nagyobb terjedelmű klasszikus mennyiségi kémiai analízis követ. E fejezetekben a hallgatók megismerkedhetnek a minőségi és mennyiségi analízis menetével, az acidi-alkalimetriával, az oxidációs-redukciós, valamint csapadékos titrálási módszerekkel, legvégül pedig a komplex vegyületek képződésén alapuló meghatározásokkal. Ezen fejezetek után az élelmiszerek főbb komponenseinek meghatározására kifejlesztett módszereket tárgyaljuk. E rész elején a nedvességtartalom meghatározását követően az ásványi alkotórészek meghatározásával és különböző spektroszkópai módszerekkel ismerkedhetnek meg a hallgatók. A továbbiakban a nitrogéntartalmú anyagok, ezen belül a fehérjetartalom, a fehérjefrakciók, illetve a fehérje aminosav-összetételének meghatározása következik. Kiemelten foglalkozunk az élelmiszerek legdrágább komponensével, a fehérjével, és próbálunk minden olyan módszert ismertetni, amelyek alkalmasak a fehérje minősítésére. A zsírtartalom és a zsírsavösszetétel meghatározását követően a nyersrost, a nyersrostfrakciók vizsgálatát tárgyaljuk. A nitrogénmentes kivonható anyagok sorában meghatározzuk a cukrokat és a keményítőt, és vizsgáljuk a különböző cukortartalmú készítmények tulajdonságait is. Jelentős helyet szentelünk a provitaminok és vitaminok meghatározásának, valamint a mikotoxinoknak. A legtöbb fejezetet egy *Válogatott fejezetek* című összeállítás zár, amelyekben speciális élelmiszer-analitikai módszereket ismertetünk.

Ezt követően a könyv a leggyakrabban előforduló élelmiszerek hamisításával és a hamisítás kimutatásainak lehetőségeivel foglalkozik. Az általános fejezetben az élelmiszer-hamisítást és annak jogi háttérét tárgyaljuk, hogy milyen hatósági intézkedéseket tehetnek az élelmiszer-hamisítás esetén a hamisítás elleni országos szervezetek, a hamisítás elleni nemzeti stratégia, hogy milyen előnyei várhatóak az élelmiszer-hamisítás elleni fellépésnek, és hogy büntethető-e a hamisítás. Ezt követően speciális élelmiszer-hamisítási eseteket és a hamisításokat ismertetjük. Szólunk a tej és tejtermékek hamisításáról, ezen belül a különféle állatfajtáktól származó tejekről és azok hamisításáról, az anyatej hamisításáról egyéb tejekkel, a szójatejről a tehéntejben, a savó és az író kimutatásáról, a tej vízezéséről és annak kimutatásáról, a tej és tejtermékek hőkezelttségének meghatározásáról, és a gyulladásos tőgyből származó kóros összetételű tej, valamint a fogyasztásra alkalmatlan, romlott tej mennyiségének kimutatásáról.

A következő fejezetben a hús és a húsipari termékek hamisításáról, ezen belül többek között a különböző fajok húsanak azonosításáról, a hús frissességének meghatározásáról, a hús és a hal műszeres minőségének méréséről, a hústartalmú ételek minősítéséről, a húselekek szennyezettségének kimutatásáról, a darált húсок minőségének meghatározásáról, illetve a húsadalékokról és kiegészítőkről szólunk. A gabonafélék szennyeződéseinek és hamisításának kimutatása során a gabonában előforduló szennyeződésekre, a különféle gabonakeverékekre és azok hatásáról a tulajdonságokra, a különféle rizsfajták megkülönböztetésére, a gabonafélék, hüvelyesek és keverékeik hamisítására, a búza és a lisztek minőségét

befolyásoló indexekre, valamint a gabonafélék és a belőlük készített termékek mikrobiológiai minősítésére szolgáló módszerekre térünk ki.

A zöldségek, gyümölcsök és a belőlük készült élelmiszerek hamisítási lehetőségeinek ismertetése során tárgyaljuk a gyümölcs- és zöldséglevelek minősítésére alkalmas vizsgálatokat, a gyümölcslevelek egymáshoz keverésének kimutatását, illetve a gyümölcsök és zöldségek érettségi és romlottsági fokára utaló paramétereket. Ezt követi az étkezési olajok és zsírok hamisításának lehetőségeit tárgyaló fejezet, majd a technológia hatását tárgyaljuk az élelmiszerek összetételére. A könyv egy olyan fejezettel zárul, mely a közelmúlt nagy botrányt keverő élelmiszer-hamisításait tárgyalja, melynek során ismertetjük a csecsemőtápszer hamisítását melaminnal és a hamisítás kimutatását, a taumatin édesítőszer hamisítását és annak kimutatására alkalmas módszereket, az élelmiszerek dioxintartalmát, hatását az emberi szervezetre és a dioxin kimutatását, valamint a méz hamisítását és annak kimutatását. Nemzeti italunk, a bor hamisítása kapcsán az olvasó megismerkedhet a szőlő, a must és a bor kémiai összetételével, a borkészítés során lezajló biokémiai változásokkal, a bor fejlődésének kémiájával, tárgyaljuk a borhamisítás leleplezésére alkalmazott korabeli módszereket, a borhamisítás jelenlegi helyzetét, és ismertetünk néhány példát a bor hamisításának kimutatására nagyműszeres analitikai kémiai technikákkal.

A könyv írása során igyekeztünk a fejezeteket úgy összeállítani, hogy azok megismerésére és végzésére a Sapientia EMTE Élelmiszertudományi Tanszékének műszereire és eszközeire alapozva a hallgatóknak lehetőségük legyen. A fejezeteket próbáltuk úgy egymásra építeni, hogy a hallgató az egyszerűbb vizsgálatoktól folyamatosan jusson el a bonyolultabb vizsgálatokig, megismerve az élelmiszerek analízisének és a hamisítás kimutatásának legfontosabb lépéseit.

Végül hálás köszönetünket szeretnénk kifejezni lektorunknak, prof. dr. Szakál Pálnak és a szerkesztőknek lelkiismeretes munkájukért. A könyvben maradt hibák kizárólag a szerzők „érdemei”. Kérjük az Olvasókat, szíveskedjenek ezekre a figyelmet felhívni.

Csíksszereda, 2015. szeptember 1.

Csapóné Dr. Kiss Zsuzsanna
tudományos munkatárs

Dr. Albert Csilla
egyetemi adjunktus

Prof. Dr. Csapó János
az MTA doktora,
egyetemi tanár

1. fejezet

Minőségi kémiai analízis

A kémiai analízis feladata az anyagok alkotórészeinek minőségi felismerése és az alkotórészek viszonylagos mennyiségének meghatározása, így a kémiai analízis feladatköre két nagy részre osztható:

- minőségi vagy kvalitatív analízisre és
- mennyiségi vagy kvantitatív analízisre.

1.1. Minőségi kémiai analízis

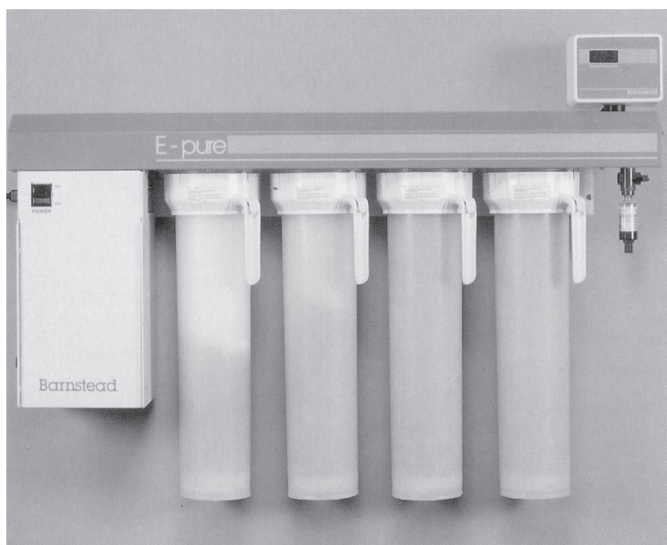
A minőségi analízis célja a vegyületek, elegyek vagy keverékek egyszerű vagy összetett alkotórészeinek felismerése. Szabatos és megbízható következtetést a minőségi összetételre vonatkozóan csak kémiai reakciók alapján kaphatunk, ezért a vizsgálandó anyagot ismert összetételű reagensekkel, kémszerekkel hozzuk össze, és megfigyeljük az eközben fellépő kémiai változásokat. A reakciók javarészt folyadékokban, főként vizes oldatokban játszódnak le. A reakcióval járó feltűnő kémiai változás leggyakrabban abból áll, hogy a vizsgált anyag egyik alkotórésze a kémszer valamelyik alkotórészeivel oldhatatlan vegyületté alakul, és csapadék formájában kiválik. A csapadék színéből és más kémszerekkel szemben tanúsított viselkedéséből következtethetünk a keresett alkotórész minőségére. Gázfejlődéssel járó reakciók esetében a gáz fizikai és kémiai tulajdonságait figyeljük meg. Néha a kémszer az oldatban színváltozást hoz létre, amely jellemző bizonyos alkotórészek jelenlétére.

A keresett alkotórészt akkor sikerül gyorsan és kellő biztonsággal felkutatni, ha az alkalmazott reakció jellemző és érzékeny. A kémiai reakció akkor **jellemző**, ha a megfigyelhető változást csak az a keresett egy bizonyos alkotórész mutatja. A reakció akkor **érzékeny**, ha a vizsgált anyag nagyon kis mennyiségének vagy igen híg oldatának alkalmazásakor is élesen megfigyelhető változás következik be. Így például a higany(II)kation jellemző kémszere a nátrium-hidroxid, mert ez csak a higany(II)ionok vizes oldatával okoz sárga csapadékot. A kloridionok nagyon kis mennyisége is kimutatható AgNO_3 -tal, mert a keletkező AgCl -csapadék még igen híg oldatban is észlelhető.

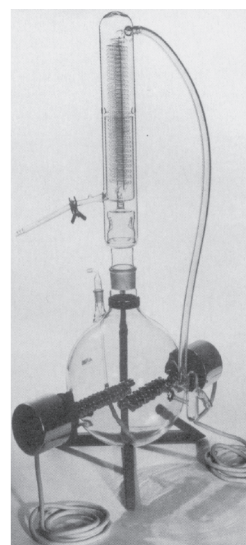
Hasonló alkotórészek egy-egy csoportjának jellemzésére az ún. **közös kémszerek** használatosak, az egyes csoportokon belüli alkotórészek felismerését pedig **különleges kémszerekkel** végezzük. A kémszerekkel végzett reakciókat a kivitelezés módja szerint kémcső-, csepp- és mikrokémiai reakcióknak nevezzük.

A **kémcsőreakciókat** a vizsgálandó anyag 1–2 cm³-ével kémcsőben végezzük. A kémszert cseppenként, rázogatás, esetleg melegítés közben adjuk a vizsgálandó anyaghoz, és megfigyeljük az eközben végbemenő változásokat. A **cseppreakciókat** a vizsgált anyag 1–2 cseppjével és kb. ugyanannyi kémszerrel óraüvegen, porceláncsészében, cseppentőlemezen vagy szűrőpapíron végezzük. A **mikrokémiai reakciókat** mikroszkóp segítségével végezzük 150–200-szoros nagyításban, keresve a jellegzetes színű és alakú kristályokat, illetve azok halmazait.

Az analitikai eljárások során rendkívül fontos az igen tiszta, jó minőségű desztillált vagy ioncserélt víz előállítása. Két ilyen minőségű vizet előállító berendezés látható az 1. ábrán.



Egy ultratisztavíz-előállító berendezés



Egy vízdesztilláló berendezés

1. ábra. Tiszta vizet előállító készülékek

1.2. A minőségi kémiai analízis menete

Az analizálni kívánt anyag elővizsgálata után a vizsgálati anyagot legtöbbször híg savakban vagy vízben feloldjuk, amennyiben nem oldódik, feltárjuk, oldhatóvá tesszük. A vizsgálandó anyag oldatával végezzük a keresett alkotórészek felkutatását. Az egyszerű analízis célja egy homogén vegyület jelenlétének megállapítása, a keverékek alkotórészeinek felkutatása viszont az összetett minőségi analízis módszereivel történik. A minőségi analízis munkamenete a következő:

- elővizsgálat,
- a vizsgálni kívánt komponensek extrakciója vagy az anyag feloldása, feltárása,

- a kationok felkutatása
 - egyszerű analízissel,
 - összetett analízissel,
- az anionok felkutatása,
- szerves vegyületek kimutatása

1.2.1. A kationok felkutatása az egyszerű analízis során

A leggyakrabban előforduló kationokat szulfidjaik és karbonátjaik eltérő oldhatósága alapján az osztályreagensek segítségével öt osztályba sorolhatjuk. Az osztályreagensek a sósav, a kén-hidrogén víz, az ammónium-szulfid és az ammónium-karbonát.

Az **I. osztály** kationjainak savanyú oldatából a kén-hidrogén vízben, híg savakban és ammónium-szulfidban oldhatatlan csapadékot választ le. Ezen kationok a sósavval szemben két alosztályba sorolhatók. Az **I/a.** alosztály kationjai kloridionokkal csapadékot adnak (közéjük tartoznak az Ag^+ , Pb^{2+} és a Hg_2^{2+}). Az **I/b.** alosztály kationjai kloridionokkal nem adnak csapadékot (idetartoznak a Hg^{2+} , Cu^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+}).

A **II. osztály** kationjainak savanyú oldatából a kén-hidrogén csapadékot választ le, amely ammónium-szulfidban oldódik. E csoport tagjai az As^{3+} , As^{5+} , Sb^{3+} , Sb^{5+} , Sn^{2+} és az Sn^{4+} .

A **III. osztály** kationjai híg savanyú oldatban kén-hidrogénnel nem adnak csapadékot. Csapadékot csak semleges vagy lúgos közegből ammónium-szulfiddal lehet leválasztani. Közéjük tartoznak a Co^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Zn^{2+} és a Mn^{2+} .

A **IV. osztály** kationjainak szulfidjai oldhatók, de semleges vagy gyengén lúgos oldatból ammónium-karbonáttal csapadékot adnak. E csoporthoz tartoznak a Ca^{2+} , Sr^{2+} és a Ba^{2+} .

Az **V. osztály** kationjai az előzőekben nem említett kémszerekkel jellemezhetők. A csoport tagjai a Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Li^+ , NH_4^+ és a H^+ .

Az egyes kationok kimutatása általában speciális reakciók segítségével történik. Néhány példát az 1.3. fejezet tartalmaz.

1.2.2. Az anionok felkutatása az egyszerű analízis során

Az anionokat a közös kémszerekkel szemben tanúsított viselkedésük alapján szintén analitikai osztályokba sorolhatjuk. Az egyes osztályok jellemzésére és egymástól való megkülönböztetésére a következő osztályreagensek szolgálnak: sósav vagy salétromsav, bárium-klorid vagy bárium-nitrát és ezüst-nitrát. Az anionok elkülönítése lényegesen nehezebb feladat, mint a kationoké. A felsorolt kémszerekkel való viselkedésük alapján az anionokat az alábbi négy osztályba sorolhatjuk:

Az **I. osztály** anionjainak vizes oldatából az erős savak (sósav, salétromsav) gázt fejlesztenek vagy csapadékot választanak le. E csoportba tartozók a CO_3^{2-} , HCO_3^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^- , S^{2-} , S_x^{2-} , SiO_3^{2-} , ClO^- .

A **II. osztály** anionjai erős savaktól észrevehetően nem változnak, semleges oldatukból azonban a Ba^{2+} -ionok csapadékot választanak le, tehát ezen anionok bárium-sói vízben oldhatatlanok. E csoport tagjai a SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , BO_3^{3-} , F^- , IO_3^- , BrO_3^- .

A **III. osztály** anionjai erős savaktól, valamint semleges oldatban báriumionoktól nem változnak, salétromsavval megsavanyított oldatukban viszont ezüst-nitráttal csapadékot adnak. Az e csoportba tartozó anionok bárium-sói tehát vízben oldódnak, ezüstsói viszont vízben és salétromsavban oldhatatlanok. Ezek a Cl^- , Br^- , I^- , CN^- , SCN^- , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$.

A **IV. osztály** anionjai erős savaktól nem változnak, semleges oldatukból báriumionok nem választanak le csapadékot, salétromsavval megsavanyított oldatuk nem reagál az ezüst-nitráttal, tehát az e csoportba tartozó anionok bárium- és ezüstsói vízben oldhatók. Idetartoznak az NO_3^- , NO_2^- , CH_3COO^- , ClO_3^- , OH^- és $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$.

Az egyes osztályokba sorolt ionokat speciális reakciók segítségével lehet egymástól elkülöníteni és kimutatni. A könyvnek nem feladata az összes anion és kation kimutatásának ismertetése, a hallgatók tudásszintjének növelése érdekében csak a legfontosabb kationok és anionok kimutatását ismertettük.

1.2.3. Lángfestési próba

A kationok egy részének haloidsói nem világító **Bunsen-lángban** izzítva elpárolognak, és gőzük a lángot jellemző színűre festi. E sók a láng magas hőmérsékletén fém- és halogénatomokra disszociálnak, a fématomok pedig e hőmérsékleten jellemző színű fényt sugároznak ki. Mivel a halogének fénysugárzása rendkívül csekély, ezért a láng színe a fémalkotórészre jellemző.

A lángfestési próba során 4–5 mm hosszú, vékony platinadrót egyik végét egy üvegcsőbe forrasztjuk, másik végét pedig köralakban meggömböztjük úgy, hogy az átmérője kb. 2 mm legyen. A lángfestési próba előtt a drót meggömböztetett végét nem világító Bunsen-lángba tartjuk mindaddig, amíg a láthatatlan szennyezés elpárolog és a láng színtelen lesz. Ha ez nem történik meg, a drótot tömény sósavba mártjuk és újból kiizzítjuk. Az izzó platinavéggel megérintjük a vizsgálandó só szilárd porát, amelyből egy kevés a drótra tapad, majd a drót végét 1 csepp sósavval megnedvesítjük, a láng csúcsához tartjuk, amit a vizsgálandó anyag jellegzetes színűre fest. A lángfestési próba során különféle fémek az alábbi színt adják:

sárga:	Na
fakóibolya:	K
kárminvörös:	Li, Sr
tégla-vörös:	Ca
fakózöld:	Ba

smaragdzöld:

Cu

fakókék:

Pb, As, Sb

Ha a lángfestési próba negatív, az még nem jelenti azt, hogy a keresett fém esetleg kis koncentrációban nincs jelen. Ha a vizsgálandó anyagban a fémek fém-oxidok vagy rosszul oldódó csapadékok formájában vannak jelen, célszerű ezeket izzítás után sósavval haloidokká átalakítani, amelyek rendszerint sokkal illékonyabbak az eredeti vegyületnél.

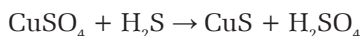
1.3. Néhány fontosabb kation és anion kimutatása

A kimutatás menete: A reakciókat kémcsőben, kis anyagmennyiségekkel (1–1,5 cm³) végezzük. A reagensből csak néhány cseppet adagolunk, majd a változás megfigyelése után újabb mennyiség hozzáadásával tesszük teljessé a reakciót.

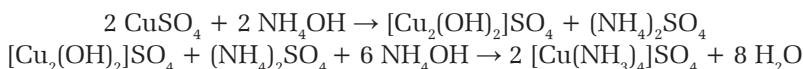
A Cu²⁺-ionok kimutatása

Törzsoldat: 0,5 M CuSO₄.

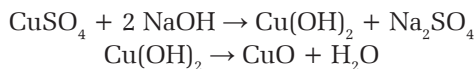
– Kén-hidrogén hatására a sósavval megsavanyított oldatból fekete CuS-csapadék válik le.



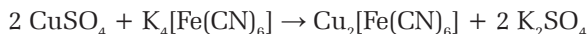
– Kevés NH₄OH-tól világoskék csapadék alakjában bázisos réz(II)só válik le, ami az NH₄OH fölöslegében réz(II)-tetraminsó keletkezése közben intenzív kék színnel oldódik.



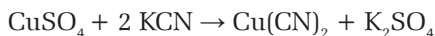
– A nátrium-hidroxid hideg oldatból világoskék Cu(OH)₂ csapadékot választ le, mely csapadék a főzésre megfeketedik, a Cu(OH)₂ ugyanis vízvesztéssel CuO-dá alakul.



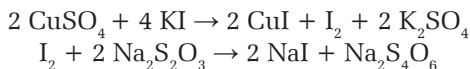
– A K₄[Fe(CN)₆] a vörösbarna Cu₂[Fe(CN)₆] csapadékot választja le, ami híg savakban nem oldódik, az NH₄OH azonban a csapadékot oldja.



– Kálium-cianid hatására először sárga színű Cu(CN)₂ csapadék válik le, mely azonnal CuCN-ra és ciángázra bomlik (igen mérgező!). KCN fölöslegében a CuCN színtelen komplex vegyületként oldódik.



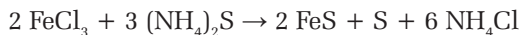
– A kálium-jodid fehér réz-jodid csapadékot választ le, azonban az egyidejűleg keletkező jód barna színe a csapadék fehér színét elfedi. Ha a jódot nátrium-tioszulfáttal eltávolítjuk, eltűnik a réz(I)-jodid csapadék fehér színe.



A Fe^{3+} -ionok reakciói

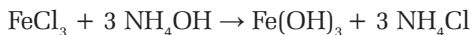
Törzsoldat: 1 M FeCl_3 .

– $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ hatására semleges vagy gyengén lúgos közegben fekete csapadék alakjában $\text{FeS} + \text{S}$ keveréke válik le.



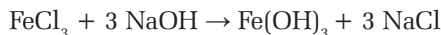
Sósavban a csapadék oldódik, levegőn pedig barna színű $\text{Fe}(\text{OH})_3$ -dá oxidálódik.

– NH_4OH hatására vörösbarna, kocsonyás állapotú vas(III)-hidroxid válik le, ami a kémszer feleslegében sem oldódik.

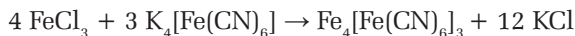


A csapadék híg savakban oldódik.

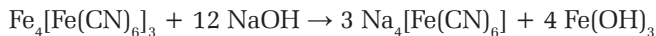
– NaOH hatására vörösbarna, kocsonyás állományú vas(III)-hidroxid válik le, mely a kémszer feleslegében oldódik.



– $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ hatására kék színű (berlinikék) csapadék válik le. A csapadék híg savakban nem oldódik, koncentrált savak azonban oldják.



A vas(III)-[hexaciano-ferrát(II)] nátrium-hidroxid hatására vörösbarna $\text{Fe}(\text{OH})_3$ -dá alakul.



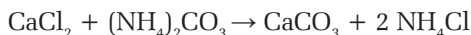
A berlinikék-reakció rendkívül jellemző a vasvegyületekre.

A Ca^{2+} -ionok reakciói

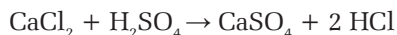
Törzsoldat: 1 M CaCl_2 .

– Savanyú oldatban a H_2S , valamint semleges oldatban az $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ csapadékot nem okoz.

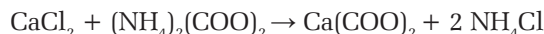
– $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ vagy a Na_2CO_3 semleges vagy gyengén lúgos oldatból fehér CaCO_3 csapadékot választ le.



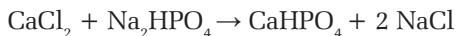
– A H_2SO_4 vagy az oldható szulfátok tömény kalciumsóoldatból CaSO_4 -ot (gipsz) választanak le.



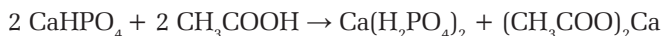
– $(\text{NH}_4)_2(\text{COO})_2$ gyengén lúgos, semleges vagy ecetsavas közegből fehér kalcium-oxalát csapadékot választ le.



– Na_2HPO_4 semleges vagy gyengén lúgos kalciumsóoldatból fehér CaHPO_4 -csapadékot választ le.



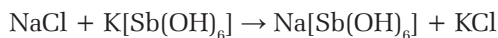
A csapadék sósavban és salétromsavban könnyen, ecetsavban valamivel nehezebben oldódik.



A Na^+ -ionok reakciói

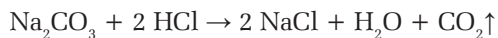
Törzsoldat: 1 M NaCl .

Kálium-antimonát $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ frissen készült telített oldata 1%-nál töményebb nátriumsó semleges vagy gyengén lúgos oldatából fehér, porszerű, kristályos nátrium-antimonátot választ le.

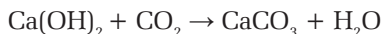


A karbonátionok (CO_3^{2-}) reakciói

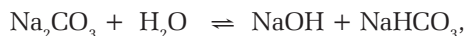
– HCl vagy szénsavnál erősebb savak a karbonátokat CO_2 gáz fejlődése közben elbontják,



a fejlődő szén-dioxid a meszes vizet [telített Ca(OH)_2 -oldat] kalcium-karbonát keletkezése közben megzavarosítja.



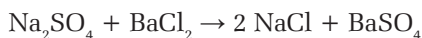
– Az oldható karbonátok hidrolízis folytán lúgos kémhatásúak,



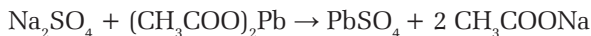
tehát ha a karbonátok vizes oldatához 1 csepp fenoltaleint teszünk, az oldat élénkpiros lesz.

A szulfácionok (SO_4^{2-}) reakciói

– BaCl_2 fehér, porszerű BaSO_4 -csapadékot választ le.

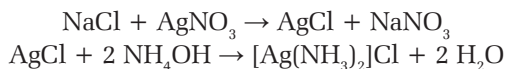


– $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ hatására fehér PbSO_4 -csapadék válik le, ami vízben és híg kénsavban alig, híg salétromsavban nehezen, forró, tömény sósavban azonban teljesen feloldódik.

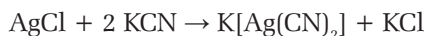


A kloridionok (Cl^-) reakciói

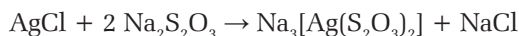
– AgNO_3 hatására fehér, túrós csapadék válik le, amely napfényen megsötétedik. A csapadékot az NH_4OH komplex só keletkezése közben oldja.



A KCN az AgCl -csapadékot komplex ezüst-cianid keletkezése közben oldja.



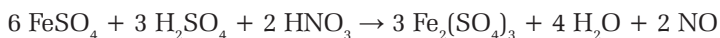
Nátrium-tioszulfátban a csapadék komplex nátrium-ezüst-tioszulfát keletkezése közben oldódik.



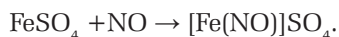
1.4. Speciális vizsgálatok élelmiszerek komponenseinek kimutatására

1.4.1. A nitrátionok kimutatása ivóvízből

A nitrátok vas-szulfát és koncentrált kénsav hatására nitrogén-monoxidra bomlanak, ami a vas-szulfát feleslegével barna színű komplex vegyületté egyesül. Utóbbi egyértelműen a nitrát jelenlétére utal. 1 cm³ nitráttartalmú oldathoz óvatosan 3 cm³ koncentrált kénsavat adunk, és a reakcióelegyet vízcsap alatt lehűtjük, majd a megdöntött kémcső falán végigfolyatva fele térfogatnyi, frissen készült vas-szulfát-oldatot rétegzünk fölé. Nitrát jelenlétében a két folyadék határfelületén barna gyűrű keletkezik, mely a ferdén tartott kémcső óvatos forgatásakor szélesebb lesz, és így jobban észrevehetővé válik. A két folyadékréteg összekeverésekor vagy melegítés hatására a színeződés eltűnik. A barna gyűrű a nitrozo-ferro-szulfáttól {[Fe(NO)]SO₄} származik, ugyanis tömény kénsav hatására a nitrátokból salétromsav szabadul fel, amely a fölös koncentrált kénsav jelenlétében a vas-szulfátot erőlyesen oxidálja az alábbi reakcióegyenlet szerint:



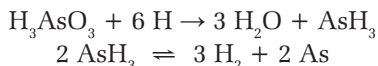
A felszabaduló nitrogén-monoxid a vas-szulfát feleslegével barna színű, laza komplex vegyületté egyesül az alábbi reakció szerint:



E vegyület magas hőmérsékleten elbomlik, és a folyadék elszíntelenedik.

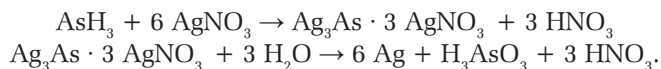
1.4.2. Arzén kimutatása

Az arzén kimutatására a **Marsh-féle próba** és a **Gutzeit-próba** alkalmas. A Marsh-próba során az oldható arzénvegyületeket a naszcensz hidrogén AsH₃ gáz-zá redukálja, ami hevítés során összetevőire disszociál.



Az elemi arzén kiválásából az arzéntartalomra tudunk következtetni.

A Gutzeit-próba során az arzénvegyületből naszcensz hidrogénnel előállított AsH₃-gáz a tömény ezüst-nitráttal átítatott szűrőpapíron sárga foltot idéz elő, amely vízzel megcseppentve megfeketedik. A lejátszódó reakció a következő:



A kivált fekete ezüstből az arzén jelenlétére lehet következtetni. A próbát úgy végezzük, hogy a kémcsőbe néhány darabka tiszta, granulált cinket teszünk, hozzáadjuk a vizsgálandó oldat néhány cseppjét, majd kénsavat és réz-szulfátot adunk hozzá. A kémcső száját a savcseppek visszatartására vattadugóval bedugjuk, majd tiszta, fehér szűrőpapírt helyezünk rá, amit gumigyűrűvel rögzítünk. A kifeszített szűrőpapír közepére 1 csepp 50 tömeg%-os ezüst-nitrát-oldatot csepepentünk, melyen arzén jelenlétében barna vagy fekete gyűrűvel szegélyezett citromsárga színű folt keletkezik. A sárga folt vízzel való megnedvesítéskor megfeketedik. Hasonló összeállítással egy vakpróbát is készítünk, amely az arzéntartalmú (vizsgálandó) oldat kivételével minden más egyéb vegyületet tartalmaz. A szűrőpapírok színét rövid időközönként összehasonlítjuk.

1.4.3. Az ammónia kimutatása Nessler-reagenssel

A Nessler-reagens [K-Hg(II)-jodid lúgos oldata] ammóniumsók oldatában sárgásbarna csapadékot, hígabb oldatban sárgásbarna elszíneződést okoz. A lúgos reagens ugyanis ammóniumsók oldatából ammóniát tesz szabaddá, mely K-Hg(II)-jodiddal bázisos Hg(II)-amido-jodid $[\text{HgO} \cdot \text{Hg}(\text{NH}_2)\text{I}]$ keletkezése közben reagál az alábbi reakcióegyenlet szerint:



A kémszer hatóanyaga valójában a Hg(II)-jodid, amelyet a fölös mennyiségű kálium-jodid tart oldatban. E rendkívül érzékeny reakció ivóvizek ammóniatartalmának kimutatására szolgál.

1.4.4. Zsírok és olajok avasodásának kimutatása Kreiss-reakcióval

A Kreiss-reakciót a zsírok avasodásakor keletkezett aldehidek és ketonok kimutatására használják. A kimutatáskor 2 cm³ olajat vagy megolvasztott zsiradékot, esetleg 2 cm³ megolvasztott zsiradéknak kloroformos vagy éteres oldatát 2 cm³ koncentrált sósavval 1 percig rázzuk, majd 2 cm³ 0,6%-os benzolos rezorcinoldatot adunk hozzá, és végül az elegyet erősen összerázzuk. Ezt követően 5 percig állni hagyjuk, majd a savas rész színéből következtethetünk az avasodás mértékére. Amennyiben az olaj vagy a zsír avas volt, a savas rész piros vagy kékespiros elszíneződést ad. Ha a reakciót nem rezorcinoldattal, hanem 0,1%-os floroglucinoldattal végezzük, akkor az élénkpirostól az ibolyaszínig terjedő elszíneződést tapasztalunk. A reakció rendkívül érzékeny az aldehidek jelenlétére, ezért halvány

elszíneződés esetén – ha egyébként érzékszervileg az avasság nem érzékelhető – nem szabad a zsír vagy olaj vas voltára következtetni.

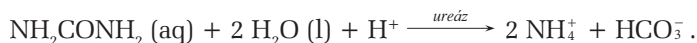
1.4.5. A különböző fémnyomok kimutatása

Szinte minden fémnek megvan az a speciális reagense, amellyel csak rá jellemző színreakciót ad, és amelynek segítségével az illető fém nyomnyi mennyisége is kimutatható. Élelmiszerekben jelen lévő szennyező fémnyomok kimutatásához először roncsolással a szerves anyagokat el kell távolítani, hogy a fémtartalom zavartalanul meghatározható legyen. A roncsolás során a vizsgált élelmiszert salétromsav-, kénsav- vagy perklórsav-oldattal mindaddig hevítjük, amíg az összes szerves anyagot el nem roncsoltuk. A roncsolást akkor tekinthetjük befejezettnek, ha víztiszta, gyengén fehér vagy sárga színű oldatot kapunk, amelyből közvetlenül vagy megfelelő hígítás után végezhetjük a különböző fémek kimutatását. A törzsoldathból az **öntartalmat** a fenil-fluoronnal végzett reakcióval mutatjuk ki, melynek során az ón(IV)ionok a reagenssel narancsszínű komplexet képeznek. Az **alumínium** a 8-hidroxi-kinolinnal sárga színű komplex vegyületet képez, amelynek színintenzitása az alumíniumtartalommal arányos. A **vastartalom** kimutatása során az oldathoz hidroxilamin-hidrogénkloridot adunk, amely a háromértékű vasat kétértékűvé redukálja. A vas(II)ion a α, α' -dipiridillel 6-os pH-nál vörös színeződést ad, melynek színintenzitása a vas koncentrációjával arányos. A **réztartalom** kimutatására a roncsolás után kapott oldathoz lúgosítás után Na-dietil-ditiokarbonátot adunk, ami sárga színű rézkomplexet eredményez. A színes vegyületet szén-tetrakloriddal kirázva a módszert mennyiségi meghatározássá is lehet fejleszteni, hisz a színintenzitás a réz koncentrációjával arányos. Az **ólomtartalom** kimutatása során ditizon-oldatot adunk a mintához, melynek hatására vörös színű fémkomplex keletkezik, aminek színintenzitása az ólom mennyiségével arányos.

A többi fémre is kidolgoztak hasonló módszereket, sőt ezen módszerek közül többet mennyiségi analízisre alkalmas eljárássá fejlesztettek, melyeket a különböző fotometriás nyomelemzési módszerek tárgyalnak.

1.4.6. Karbamid kimutatása élelmiszerekből

A karbamid az *ureáz* enzim hatására az alábbi reakció szerint bomlik ammóniára és szén-dioxidra:



A keletkezett hidrogén-karbonát anionok a későbbiek során szén-dioxidra és vízre bomolhatnak, az ammóniumionok pedig ammónia formában távozhatnak a rendszerből. A keletkező ammóniumionok a rendszer pH-ját akár több egységgel

is megnövelhetik, amit egy jól megválasztott indikátorral mérni lehet. A gyakorlatban történő kimutatás során 5–10 g feltételezhetően karbamidot tartalmazó mintából vizes kivonatot készítenek, majd ebből *ureáz* enzimet és indikátort tartalmazó szűrőpapírra vagy tesztcsíkra cseppentenek pár cseppet. A tesztcsíkot vagy szűrőpapírt olyan reagensoldatba mártják bele, melynek 100 cm³-e 0,1 g krezolvörös indikátort, ill. 1 g por alakú *ureázt* tartalmaz. Karbamid jelenlétében a tesztcsíkra cseppentett oldat helyén pár percen belül piros színű folt figyelhető meg pozitív teszt esetén.

A karbamid meghatározására lehetőség van ammóniaszelektív elektróddal is, ugyanis az *ureáz* enzim hatására a felszabaduló ammóniumionok az ammóniaszelektív elektród membránpotenciálját megváltoztatják. Ismeretesek olyan elektródák is, melyek membránja fixen kötött *ureáz* enzimet tartalmaz, aminek segítségével a karbamid ammóniává történő átalakulása a membránban végbemegy.

Az előzőekben ismertetett eljárás alkalmas a szója *ureáz* enzim tartalmának gyors kimutatására úgy, hogy a szűrőpapírt 1% karbamidot és 0,1% krezolvörös indikátort tartalmazó oldatba mártjuk, és amelyre szójaliszt vízzel készített szuszpenzióját cseppentjük. Amennyiben a szójaliszt *ureáz* enzimet tartalmazott, a szűrőpapír színe az enzim aktivitásának függvényében halvány rózsaszíntől a sötétvörösig változhat.

2. fejezet

Mennyiségi kémiai analízis

2.1. Bevezetés a mennyiségi kémiai analízisbe

2.1.1. Mennyiségi kémiai analízis

A mennyiségi kémiai analízis célja vegyületek, keverékek vagy elegyek minőségileg előzetesen jellemzett alkotórészei viszonylagos mennyiségének meghatározása. Míg a minőségi analízis arra ad feleletet, hogy a vizsgált anyag milyen alkotórészekből áll, addig a mennyiségi analízis megmondja, hogy az anyag ezen alkotórészekből mennyit, általában hány százalékot tartalmaz. A keresett alkotórész meghatározása csak egészen ritka esetben történhet úgy, hogy az alkotórészt elemi állapotban, tisztán leválasztjuk és tömegét megmérjük. Tülnyomórészt bizonyos kémiai vagy fizikai-kémiai módszerekhez folyamodunk, melyek eredményéből számítás útján következtethetünk az illető alkotórész mennyiségére. A meghatározás módja szerint tehát megkülönböztetünk **kémiai** és **fizikai-kémiai** módszereket.

A mennyiségi analízis *kémiai* módszerei közvetve vagy közvetlenül a mérlegelésen alapszanak. A meghatározandó anyagon teljesen végbemenő kémiai változásokat idézünk elő, és a reagens térfogatából vagy a reakciótermék tömegéből következtetünk az alkotórész mennyiségére. Eszerint megkülönböztetünk *térfogatos* (*titrimetriás*, *volumetriás*) és *tömeganalitikai* (*gravimetriás*) módszereket. A mennyiségi analízis *fizikai-kémiai* módszerei igen sokfélék lehetnek. E könyv több fejezetében a mennyiségi kémiai analízis térfogatos módszereit ismertetjük.

2.1.2. Térfogatos (titrimetriás) kémiai analízis

A térfogatos kémiai analízis módszereinél a megmért vizsgálandó anyag oldatához olyan ismert töménységű mérőoldatot adunk, ami a meghatározandó alkotórésszel gyorsan és teljesen végbemenő reakcióba lép. A fogyott mérőoldat térfogatából a keresett alkotórész mennyisége kiszámítható.

A számítások elvégzésére **a keresett alkotórész kémiai átalakulásához szükséges mérőoldat mennyiségét pontosan ismernünk kell**, ezért a mérőoldatból éppen csak annyit kell alkalmaznunk, amennyi a reakció befejezéséhez szükséges. Ez csak akkor lehetséges, ha **a reakció, amelyen a kérdéses módszer alapszik, egyértelműen és teljesen végbemegy, élesen végződik és befejeződése pontosan megfigyelhető.**

A reakciók végpontjának jelzésére, ha ezt az oldat színének megváltozása különben nem jelzi, általában **indikátorokat** (jelzőket) használunk, amelyek a reakció befejezését élénk színváltozással árulják el. E festékindikátorokon kívül **a vizsgálandó oldatba merülő elektród potenciálváltozása** vagy **az oldat vezetőképességének változása** is alkalmas lehet **a reakció végpontjának felismerésére**.

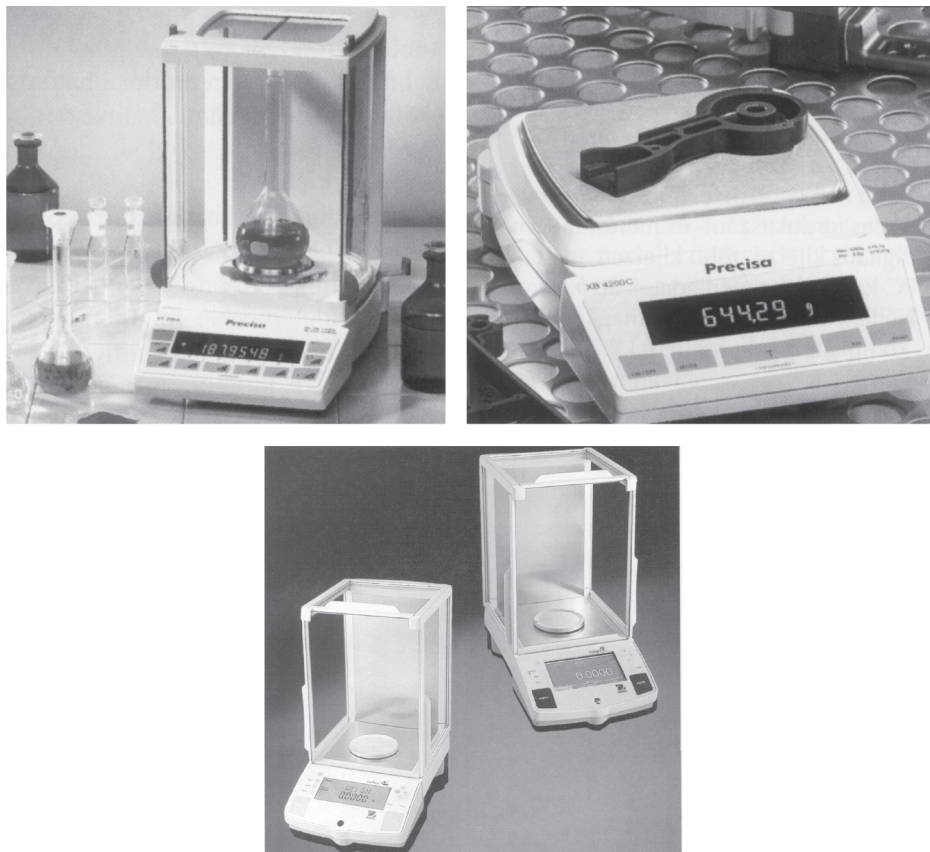
2.1.3. Analitikai mérleg és mérlegelés

A térfogatoss analízis során százalékos összetételt, vagyis tömegviszonyokat állapítunk meg, tehát a kiindulásul szolgáló vizsgálandó anyag pontos tömegét ismernünk kell. Ismert koncentrációjú mérőoldatot is csak úgy tudunk készíteni, hogy az oldandó anyag tömegét pontosan megmérjük, illetve a kész oldatot pontosan ismert tömegű anyagra állítjuk be. Ezek szerint a térfogatoss analízis részben közvetlenül, részben közvetve tömegmérésen alapszik.

Az anyagok tömegének meghatározására az **analitikai mérleget** használjuk. Az analitikai mérleg régebben finom kivitelezésű, gyakorlatilag egyenlő karú mérleg volt. Lengő rendszere két merevített, rendszerint sárgarézsből vagy alumíniumból készült, könnyű karból és erre mérőleges mutatóból állt, mely achát- vagy acélprizma élével támaszkodik a mérlegoszlop tetejére szerelt achátlemmezre. A mérleg serpenyői ugyancsak achátlemzezből való betéttel ellátott kengyelek segítségével voltak a mérlegkarok végére erősített achátékekre felfüggesztve. A mérlegoszlop belsejében foglal helyet az arretáló (tehermentesítő emelő) szerkezet, ami kívülről rézkilincs elforgatásával hozható működésbe. A mérleg egyéb részei még az oszlopra, a mérlegnyelv alá erősített skála, a lovastömeg eltolására való szárn, valamint az egész mérleget magába foglaló, felhúzható ajtóval ellátott üveg-szekrény. Az analitikai mérleg legnagyobb teherbírása rendszerint 100–200 g. A modern analitikai mérlegek pontossága elérheti a 0,1–0,01 mg-ot (2. ábra).

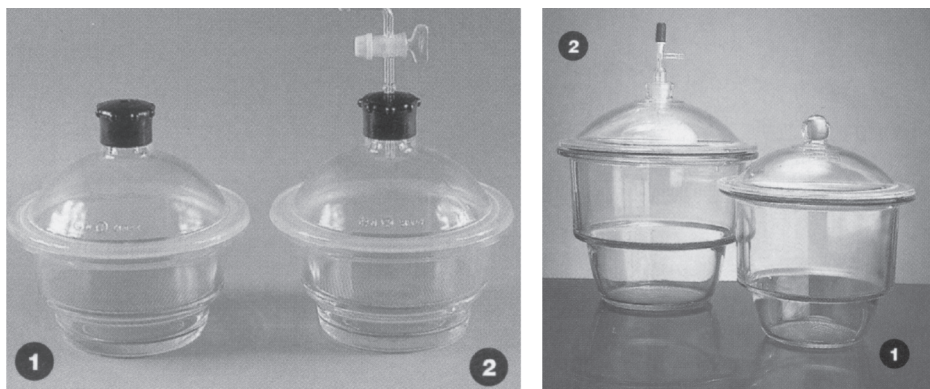
A mérlegelésnél, a mérleg használatánál az alábbiakat kell betartani. A mérleget és a tömegeket tartsuk *tisztán*. Evégből tartsunk a mérlegben egy kis hajszálcsetet, és legyen kéznél egy darabka szarvasbőr is, amellyel az egyes alkotórészeket vagy a mérlegasztalt időnként letisztítjuk. A mérleg egyoldalú *felmelegedését* és lehülését kerüljük. A mérleg felállítása ezért fűtőtestektől távol, napfénytől és léghuzattól óvott helyen, a laboratóriumtól elkülönített mérlegszobában történjék. Forró vagy meleg tárgyakat a mérlegelés előtt szabad levegőn hagyjuk kihűlni, majd exsikkátorban (3. ábra) vagy lefedett üvegpohárban a mérleg mellé tesszük, és teljes hőmérséklet-kiegyenlítődéig állni hagyjuk. Pl. edényeket a melegítéstől számított fél óra, üveg- vagy porcelán-edényeket 45 perc múlva mérhetünk. Meleg testek a mérlegkarok megnyúlása és főleg a meleg hatására fellépő konvekciós légáramlások miatt nem mérhetők meg pontosan. Közepes méretű, befedett tégely például, melynek hőmérséklete 1 °C-kal nagyobb a környezeténél, pusztán a benne lévő levegő kisebb sűrűsége folytán 0,1 mg-mal könnyebb, mint teljes hőmérséklet-kiegyenlítődé után. A

mérőtömegeket a hőmérséklet-kiegyenlítődés miatt ugyancsak tartasuk állandóan a mérleg mellett.



2. ábra. Laboratóriumi mérlegek

Az exszikkátorból kivett mérőedényeket vagy nagyobb felületű üvegeszközöket nem szálasodó vászonnal vagy szarvasbőrrel való letörlés után, bedugaszolt állapotban 10 percre helyezzük a mérlegszekrénybe, hogy felületük a *levegő nedvességével* egyensúlyba jusson. Közvetlenül a mérés előtt nyissuk ki az edény dugóját egy pillanatra, hogy a nyomáskülönbség kiegyenlítődjék. Közöséges üvegből készült edény a körülményektől függően 100 cm²-enként 1–10 mg nedvességet is megköthet felületén. Nagy felületű üvegedények mérésénél tehát helyesen járunk el, ha az edényt ugyanolyan térfogatú, alakú és előkezelésű üvegedénnyel egyensúlyozzuk ki.



3. ábra. Exsikkátorok

Papírcímke, szűrőpapír, dugó, valamint ujjlenyomatokkal ellátott edény nem ad *állandó tömeget*. A mérendő tárgyakat alkalmas fémfogókkal, szarvasbőrrel vagy nem szálasodó vászondarabbal megfogva helyezük mérlegre. Közvetlenül mérés előtt az üvegeszközöket nem szabad vászonnal vagy szarvasbőrrel dörzsölni, mert felületük elektromosan feltöltődhet, és ez a mérést zavarja.

A *lemérendő anyagot* nem szabad közvetlenül a mérleg serpenyőjére rakni, hanem valamilyen könnyű edényben kell mérni. Nem higroszkópos anyagokat nyitott kis üveg-bepárlócsészében vagy csónak alakú üvegedényben mérünk le. A higroszkópos anyagok mérésére becsiszolt dugóval ellátott mérőedénykét vagy mérőcsövecskét használunk. Az üres edények pontos abszolút tömegének ismerete fölösleges, ezért az egyszerűség kedvéért ezek tömegének megállapításakor a mérleg egyensúlyi helyzetét nem az üres mérleg egyensúlyi helyzetére, hanem a skála nullapontjára állítjuk be. Ugyanígy járunk el az anyag és az edény együttes tömegének megállapításakor is. Mivel a bemért anyag tömegét a két mérés különbsége adja meg, az edény tömegének mérésekor elkövetett kis hiba kiesik.

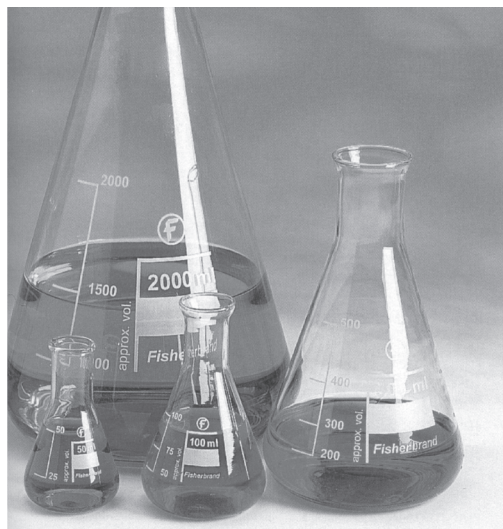
Ha ugyanabból az anyagból különböző kis részleteket akarunk lemérni, úgy járunk el, hogy először lemérjük az anyaggal telt edény tömegét, majd kiszórjuk belőle veszteség nélkül egy másik edénybe a kívánt anyagmennyiséget, és a maradékot visszamérjük. A második részletet egy másik edénybe szórjuk, és a maradékot újból visszamérjük. Ily módon eljárva két beméréshez összesen csak három tömegmérést kell végeznünk. Illékony anyagok vagy vizes oldatok lemerését bedugaszolt üveg-dugós edényben végezzük. A párolgással járó tömegcsökkenést az óraiüveggel való befedés nem küszöböli ki. 0,1%-nál nem pontosabb meghatározásoknál 10 g-nál nagyobb tömegű beméréseket (oldatok) célszerűbb milligramm pontosságú táramérlegen végezni.

Az analitikai gyakorlatban százalékos anyagtartalmat, vagyis tömegviszonyokat állapítunk meg. Ezért nem kell ismernünk a meghatározott alkotórész

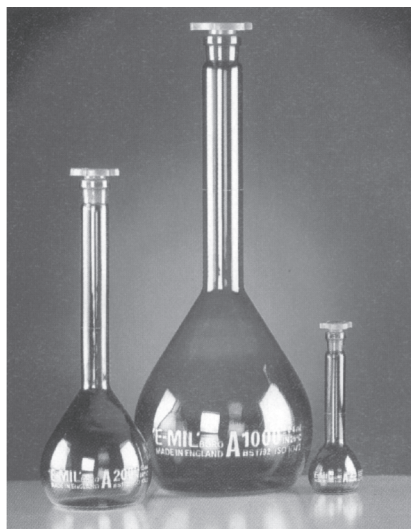
és a bemért anyag pontos abszolút tömegét, hanem csupán a kettő tömegviszonyát. Ez a tömegmérést annyiban egyszerűsíti, hogy abszolút tömegmérés helyett aránylag egyszerűbb, relatív tömegméréssel is megelégedhetünk. Ha ugyanis méréseinket mindig ugyanazon mérleg ugyanazon serpenyőjén végezzük, a karok egyenlőtlenségéből származó hiba a tömegviszonyok számításánál kiesik.

2.1.4. Laboratóriumi edények anyaga

Pontos mennyiségi analízishez feltétlenül szükséges, hogy a laboratóriumi edények anyagával, használati módjával és az alkalmazásával járó hibákkal tisztában legyünk.



Erlenmeyer-lombikok

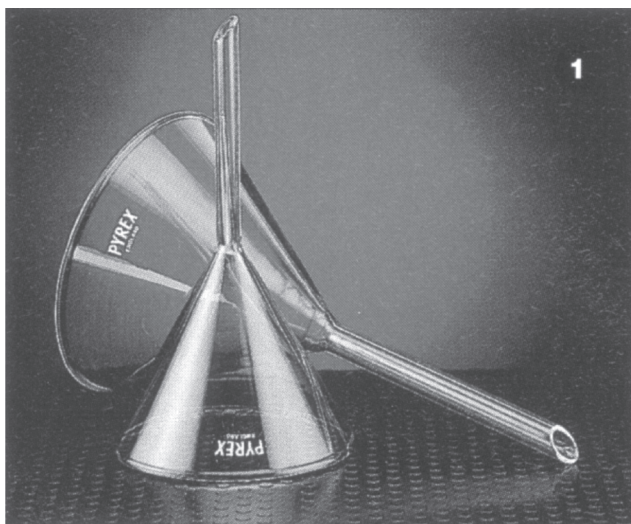


Mérőlombikok

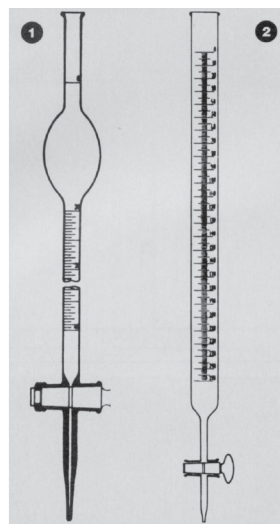
4. ábra. Lombikok

A **közönséges nátronüveg** (körülbelüli összetétele: SiO_2 75%, Na_2O 12%, CaO 13%) enyhe vörös izzáson (500–600 °C) lágyul, könnyen megömleszthető és a hőmérséklet-változásokra érzékeny. Vízben és savakban, különösen magasabb hőmérsékleten, jelentékeny mértékben oldódik. Lúgok erősen megmarják. Főleg üvegcsövek, mérőhengerek, mérőlombikok, pipetták és erős falú edények (kém-szerűüvegek) készítésére használják.

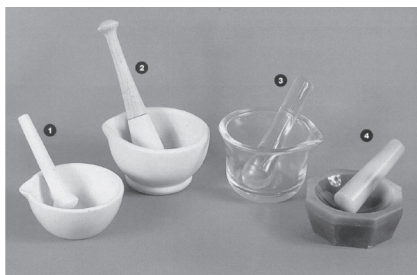
A **jénai üveg** (bórsav, nátrium- és magnéziumszilikát tartalmú üvegek) 600–700 °C között lágyulnak, hőmérséklet-változással szemben elég ellenállóak, és kémiai ellenálló képességük is igen nagy. Erős lúgok azonban, különösen magas hőmérsékleten, megtámadják. Lombikok, poharak, hőmérők és nagyobb ellenálló képességű eszközök készítésére használják (4., 5. ábra).



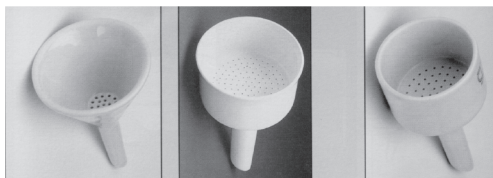
Üvegtölcsérek



büretták



dörzsmozsarak



porcelánszűrők

5. ábra. Laboratóriumi eszközök

A **káliüveg** (körülbelüli összetétele: SiO_2 71%, K_2O 18%, CaO 11%) magas hőmérsékleten (700–800 °C-on) lágyul, hőmérséklet-változásokkal, valamint vegyszerekkel szemben elég ellenálló. Égetőcsövek, nehezen olvadó üvegeszközök készítésére használják.

Az **ólomüveg** (körülbelüli összetétele: SiO_2 52%, K_2O 13%, PbO 35%) alacsony hőmérsékleten (400–500 °C) lágyul, hőérzékeny, vízzel és vegyszerekkel szemben kicsi az ellenálló képessége. Redukáló lángban hevítve fémólom kiválása miatt megfeketedik. Lágy üveg, fénytörő képessége nagy. Főleg optikai eszközök készítésére, valamint fémeknek üvegbe való forrasztására használják.

A **porcelán** magasabb hőmérsékletre (1300 °C) hevíthető, mint az üveg. Lúgokkal és savakkal szemben ellenállóbb, azonban a foszforsav erősen megtámadja. A hőmérséklet-változásra kevésbé érzékeny, azonban hevítését és hűtését óvatosan kell végezni. Lúgos ömledékek kevés alumínátot és szilikátot oldanak

ki belőle. Főleg tégelyek, tégelyfedők, bepárlócsészék, izzítólemezek és égető-csővek készítésére használják. 1000 °C feletti használatra zománcozás nélküli porceláneszközöket is forgalomba hoznak.

A **kvarc** edények 1700 °C körül lágyulnak. Hőmérséklet-változással szemben teljesen érzéketlenek. A kvarc savakkal szemben ellenálló (kivéve a foszfor-savat), lúgok már közönséges hőmérsékleten is megtámadják. Magasabb hőmérsékleten minden bázisos fénoxid, borát és foszfát megtámadja. Magas hőmérsékleten még az ujjlenyomatok kevés fénoxid-tartalma is üvegeképződéshez és így meghomályosodáshoz vezet. A kvarc, a megmunkálás hőmérséklete szerint, kétféle alakban kerül forgalomba: a magas hőmérsékleten megmunkált kvarceszközök üvegszerűen átlátszóak (kristálykvarc), míg az alacsonyabb hőmérsékleten megmunkált eszközök levegőbuboréktól homályosak. A kvarcot főleg tégelyek, csészék és égetőcsövek készítésére használják. A kvarctégelyekben főleg savanyú feltárásokat végzünk.

A **platina** – tégely, csésze stb. alakjában – a mennyiségi analízis gyakran nélkülözhetetlen eszköze. Magas olvadáspontja (1800 °C), mechanikai és kémiai ellenálló képessége, jó hővezetése a platinát majdnem pótolhatatlanná teszi. Mechanikai szilárdságának növelésére gyakran 0,5–1,0% irídiummal ötvözik. Fejlődő halogének a platinát megtámadják, ezért belőle készült edényekben nem szabad királyvizet vagy haloidokat tartalmazó anyagot oxidálóanyagokkal (HNO_3 , KMnO_4 , FeCl_3 stb.) melegíteni. Lúgos ömledékek a platinaedény felületét megtámadják. A Na_2CO_3 önmagában még nem idéz elő káros változást, de a szilárd NaOH , KOH , Na_2O_2 , valamint $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{KNO}_3$ már reagál a platínával, és jelentős korróziót idéz elő.

A **nikkelt** tégelyek és csészék készítésére használják. Olvadáspontja 1455 °C. A nikkelt már híg savakban is oldódik és könnyen oxidálódik, ezért savanyú vagy oxidáló ömlesztést nem szabad benne végezni. A lúgos ömledékek megsavanyítását sem szabad nikkeledényben végezni. A nikkeledényeket lúgos anyagok ömlesztésére használják, habár kismértékben ezek az anyagok is megtámadják, és az ömledék mindig tartalmaz kevés nikkelt. A nikkeledényeket a gázláng redukáló része nikkelt-tetrakarbonil képződése közben megtámadja.

Az **ezüstöt** tégelyek és csészék készítésére használják. Az ezüstöt lúgos oldatok és ömledékek nem támadják meg, ezért kiválóan alkalmazható lúgos ömledékek készítésénél. Az ezüst olvadáspontja aránylag alacsony (960 °C), ezért hevítését óvatosan kell végezni, szűrőlángban nem szabad izzítani.

Az **aranyedényeket** a megolvasztott fém-hidroxidok nem támadják meg. A tiszta arany olvadáspontja 1060 °C.

2.1.5. Térfogatmérő eszközök

A folyadékok térfogatának pontos mérésére a mérőlombikok, a pipetták és büretták szolgálnak. A térfogatmérő eszközök a kereskedelemben „hitelesített” minőségben kerülnek forgalomba.

A **mérőlombikok** keskeny nyakú, üveg dugós állólombikok, nyakukon körkörös jellel. A mérőlombikokat meghatározott térfogatú oldatok készítésére használjuk, és éppen ezért betöltésre vannak kalibrálva. Ez azt jelenti, hogy a mérőlombikot a rajta feltüntetett hőmérsékletű (rendszerint 20 °C-ú) folyadékkal pontosan a jelig töltjük, a benne lévő folyadék térfogata éppen annyi, mint ahány cm^3 -es a lombik jelzése. A lombikból kiöntött folyadék térfogata az üveghez való tapadás folytán valamivel kisebb. A mérőlombikok (és általában a többi térfogatmérő eszközök) 20 °C hőmérsékletre vannak kalibrálva. Ha tehát bennük oldatokat készítünk, az anyag feloldódása után meg kell várunk, míg az oldás közben beálló hőmérséklet-csökkenés vagy hőmérséklet-emelkedés kiegyenlítődik, majd 20 °C-ú vízzel, rázogatás közben annyira töltjük fel, hogy a folyadék meniszkusza a jel alatt 1–2 cm-re álljon. Kétpercnyi utánfolyás bevétele után fecskendőpalackból vagy pipettából annyi vizet csepegtetünk hozzá, hogy a folyadék meniszkuszának alsó része a jelen átfektetett síkot éppen érintse. A lombikot ezután bedugjuk, tartalmát alaposan összerázzuk.

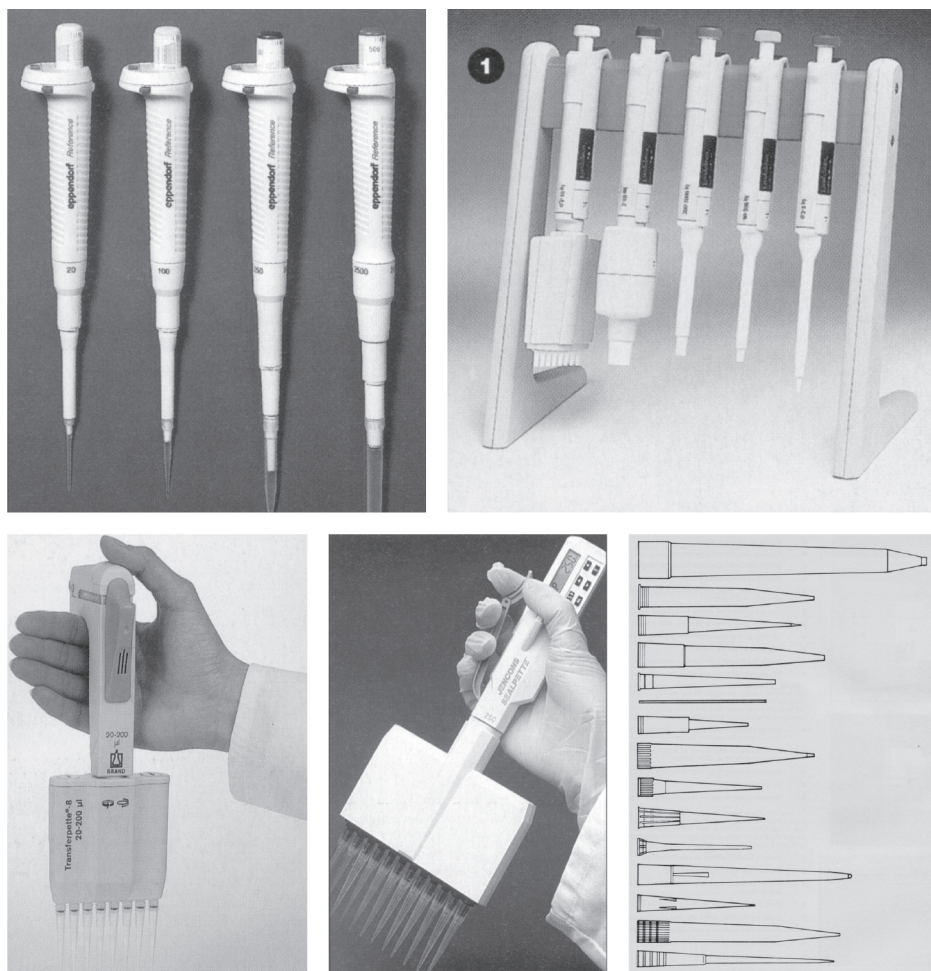
A **pipetták** a mérőlombikhoz hasonlóan a meghatározott folyadékrészletek lemérésére szolgálnak. A mérőlombikkal ellentétben kifolyásra kalibráltak, vagyis a belőlük kiengedett folyadék térfogata egyezik a rajtuk feltüntetett térfogattal. A pipetták valódi térfogata tehát a belső felületükön tapadó folyadékréteg térfogatával nagyobb a rajtuk feltüntetett térfogatnál. A folyadék pontos adagolására ma már főként automata pipettákat és diszpenzereket alkalmaznak (6., 7. ábra).

Az *egyjelű pipettával* való térfogatmérés úgy történik, hogy a folyadékot lassú szívással a pipetta nyakán lévő körkörös jel fölé szívjuk, a felső nyílását száraz mutatóujjunkkal befogjuk, a pipetta szárát kívülről szűrőpapírral vagy tiszta ruhával szárazra töröljük, majd kifolyó nyílását az edény falához érintve és a felső nyíláson tartott ujjunkat kissé meglazítva, a folyadék meniszkuszát a jelre beállítjuk. Kiürítésnél a pipettát függőlegesen tartjuk és csúcsát az edény falához érintjük. Teljes kifolyás után 15 másodpercnyi utánfolyást várunk, miközben a pipetta csúcsát állandóan az edény falához érintve tartjuk.

A *kétjelű pipettákat* az egyjelű pipettákhoz hasonló módon töltjük meg, kiürítésnél azonban akkor várunk utánfolyási időt, amidőn a folyadék meniszkusza az alsó jel fölött kb. 5 mm-re áll. Az utánfolyás bevétele után a folyadék meniszkuszát pontosan az alsó jelre állítjuk, miközben a pipetta végét az edény falához érintjük.

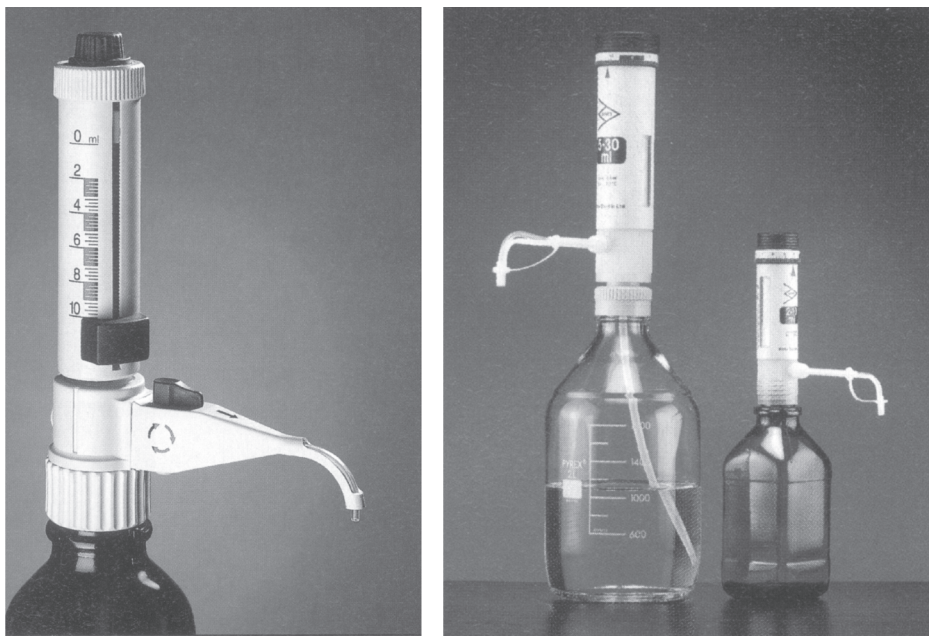
Az *osztott pipetták* egyenletes keresztmetszetű, alul lehúzott végű, felül keskenyebb üvegcsőben folytatódó, cm^3 vagy $0,1 \text{ cm}^3$ beosztással ellátott üvegcsövek. Pontosabb térfogatmérésre nem alkalmasak. Tetszés szerinti kisebb folyadékmennyiségek közelítő pontosságú lemérésére használjuk.

Csak teljesen zsírmentes falú pipettával lehet helyes térfogatmérést végezni. A zsírmentesítés króm-kénsavval történhet. Evégből a pipetta végére rövid gumicsövet húzunk, óvatosan króm-kénsavat szívunk bele, ügyelve arra, hogy az a gumicsőhöz ne érjen, majd a gumicsövet szorítócsappal elzárjuk. A pipettát króm-kénsavval egy éjszakán át állni hagyjuk, majd vízzel és desztillált vízzel kiöblítjük, és függőleges helyzetben szárítjuk.



6. ábra. Különböző típusú pipettorok és pipettorhegyek

A **büretta** kifolyásra kalibrált térfogatmérő eszköz. Egyenletes keresztmetűtű, alul csappal elzárható mérőcső, ami az össztérfogaton belül tetszőleges térfogatú folyadékreszletek pontos lemérésére alkalmas. A gyakorlatban leginkább elterjedtek az 50 és 25 cm³ térfogatú, 0,1 cm³ beosztású büretták, melyeken a 0,1 cm³-eket pontosan leolvashatjuk, a 0,01 cm³-eket pedig becsülhetjük. E büretták skálával beosztott részének hossza kb. 60 cm. 10 cm³-nél kisebb térfogatok pontos mérésére a kb. 50 cm hosszú, 0,02 cm³ beosztású, 10 cm³-es finom büretták szolgálnak. Ezeken 0,01 cm³-t pontosan lehet becsülni. A mikrobüretták 2–5 cm³ térfogatú, igen finom beosztású büretták, melyek rendszerint utántöltő berendezéssel is el vannak látva. Ezeken 0,001 cm³-t még becsülni lehet.



7. ábra. Különböző típusú diszpenzerek

A bürettákat állványba fogva, függőleges helyzetben használjuk. A büretta csapját csapzsírral vagy vazelinnel vékonyan bekenjük, és a csapülésbe szorítva néhányszor körülforgatjuk. A jól zsírozott csaptest átlátszó, levegőbuboréktól mentes, és furata nincsen zsírral eltömődve. A büretta belső falának zsírmentesnek kell lennie. A tefloncsapos büretták zsírzást nem igényelnek. 10 cm³ folyadékra legalább 1 perc kifolyási időt kell számítanunk. Ez idő alatt az utánfolyás olyan csekély, hogy csak gyakorlatilag észre sem vehető hibát okoz. A leolvasást a csap elzárása után fél perccel végezzük. Minél kisebb a büretta átmérője, annál nagyobb hibát okozhat az utánfolyás. Túlságosan kis átmérőjű bürettáknál (mikrobürettáknál) a kifolyási időt 10 cm³-enként 4–5 percre kell hosszabbítanunk.

A csepphiba csökkentése céljából a bürettacsap „csőrének” lehetőleg kis átmérőjűnek kell lennie. Ha ez túlságosan nagy lenne, szűrőlámban meglágyítva vékonyabbra húzzuk. Legmegfelelőbbek az olyan csapnyílású büretták, melyeken egy csepp térfogata kb. 0,03 cm³. A csepptérfogatot úgy állapítjuk meg, hogy kb. 50 cseppet kiengedünk a bürettából, és a leolvasott térfogatváltozást elosztjuk a cseppek számával. Az igen szűk csapnyílású büretták könnyen eltömődhetnek.

A büretta leolvasását nagy körültekintéssel kell végeznünk. A parallaktikus hiba kiküszöbölésére leolvasáskor a szemünket a meniszkusszal egy magasságban tartjuk. E feltételnek könnyen eleget tudunk tenni olyan bürettáknál, ame-

lyek minden cm^3 beosztásnál körkörös jellel vannak ellátva. Ezeknél a leolvasás akkor parallaxismentes, ha a jelet vízszintes vonalnak látjuk. Közöséges büretták leolvasása alkalmával a $0,01 \text{ cm}^3$ -t, mikrobürettáknál a $0,001 \text{ cm}^3$ -t becsüljük. A csap végén lógó cseppet az edény falához való érintéssel le kell szednünk.

A térfogatmérő edények kalibrálása. A forgalomban levő, *hitelesített* térfogatmérő edények pontossága közöséges analitikai célokra általában megfelelő. Ezen edények hibája ugyanis a közöséges analitikai meghatározások hibahatárán belül esik. A hitelesített edények hibahatárai:

Mérőlombikoknál: $50 \text{ cm}^3 \pm 0,06\%$, $100 \text{ cm}^3 \pm 0,05\%$, $500 \text{ cm}^3 \pm 0,028\%$, $1000 \text{ cm}^3 \pm 0,019\%$.

Pipettáknál: $2 \text{ cm}^3 \pm 0,3\%$, $10 \text{ cm}^3 \pm 0,15\%$, $20 \text{ cm}^3 \pm 0,1\%$, $100 \text{ cm}^3 \pm 0,05\%$.

Bürettáknál: $10 \text{ cm}^3 \pm 0,2\%$, $30 \text{ cm}^3 \pm 0,1\%$, $50 \text{ cm}^3 \pm 0,08\%$.

Az értékekből látható, hogy a kisebb edények pontatlanabbak, mint a nagyobbak. Ha a meghatározást nagyobb pontossággal akarjuk végezni, vagy nem hitelesített mérőedények állnak rendelkezésünkre, a használatba vett edények térfogatát tömegmérés útján kalibrálni és használat közben a leolvasott térfogatot a kapott korrekcióval helyesbíteni kell.

2.1.6. Mérőoldatok

A térfogatos analízishez pontosan ismert töménységű mérőoldatokra van szükségünk. Bármilyen koncentrációjú oldattal titrálhatunk, ha az oldat koncentrációját ismerjük. A számítás egyszerűsítésére azonban célszerű olyan mérőoldatokkal dolgozni, amelyek koncentrációja az oldott anyag molekulatömegével arányos. Az oldatok koncentrációját molaritásban fejezzük ki.

A mólos oldat 1000 cm^3 -ében a kérdéses anyag g-molekulatömegnyi mennyisége van oldva. *Ebből következik, hogy a mólos oldat 1000 cm^3 -e a meghatározandó anyag g-molekulatömegnyi mennyiségét méri.* A gyakorlatban legtöbbször mólos oldatnál **tízszor hígabb** oldatot – $0,1 \text{ M}$ oldatot – használunk. Ennek 1000 cm^3 -ében a g-molekulatömeg tizedrésze van feloldva. Használatos még $0,5 \text{ M}$, $0,2 \text{ M}$ és $0,01 \text{ M}$ koncentrációjú mérőoldat is.

A mólos oldatok készítése ritkán történhet az anyag közvetlen bemérésével. Erre csak olyan anyagok alkalmasak, amelyek:

- tisztán előállíthatók;
- összetételük pontosan megegyezik a képletből számítható összetétellel;
- levegőn könnyen mérhetők, vagyis nem higroszkóposak és nem vesztek el könnyen kristályvizüket, illetve a levegő oxigénjétől és szén-dioxid-tartalmától nem változnak.

E követelményeknek megfelelő anyag a legtöbb esetben nem áll rendelkezésünkre. Ilyenkor durvább beméréssel vagy töményebb oldat hígításával közelítő pontosságú oldatot készítünk, és az oldat hatóértékét titrálással állapítjuk meg. E beállítást természetesen olyan anyagra kell végezni, amely tiszta, könnyen mér-

hető és összetétele pontosan ismert. A beállító anyagok tisztítására és szárítására nagy gondot kell fordítani, mert ezek hatóértékét ellenőrizni nem tudjuk.

2.1.7. A titrálás hibaforrásai

A titrálás, mint minden mérés, bizonyos hibával jár. Ha tehát ugyanazt a titrálást többször egymás után megismételjük, nem kapjuk pontosan ugyanazt a fogyást, hanem az egyes mérések eredményei bizonyos szórást mutatnak. Az egyes mérési eredmények tehát eltérhetnek a valódi értéktől. Eredményeink megítélése szempontjából fontos az *észlelési hiba* nagyságának ismerete. Az észlelési hiba két részből tevődik össze: a szubjektív okokra visszavezethető *véletlen hibából* és az objektív okokra visszavezethető *rendszeres hibából*.

A titrálás véletlen hibái. A véletlen hibák érzékszerveink tökéletlenségéből, az észlelő pillanatnyi fáradtságából és a kísérleti feltételek kismértékű ellenőrizhetetlen ingadozásaiból származnak. Ha a rendszeres hibákat kiküszöböljük vagy legalábbis állandóan tartjuk (pl. ugyanazon bürettárból, ugyanazzal a mérőoldattal és indikátorral, ugyanazon térfogatban végezzük a titrálást), a többször megismételt titrálások eredményei a mért mennyiség valódi értéke körül szórást mutatnak. Ez onnan származik, hogy a véletlen hibák az eredményt hol növelik, hol csökkentik.

A véletlen hibákról mondottakból kitűnik, hogy egyetlen titrálás véletlen hibája elméletileg végtelen nagy, vagyis nulla annak a valószínűsége, hogy egyetlen titrálással a meghatározást pontosan elvégezhessük. A titrálásoknál tehát minél több, de legalább három párhuzamos meghatározást kell végeznünk. Ilyen kisszámú mérés esetében a valószínű hiba nagyságrendjét a középértéktől való legnagyobb eltérésből (a legnagyobb szórásból) állapíthatjuk meg. Tudományos pontosságú titrálásoknál 8–12 párhuzamos meghatározást kell végeznünk, feltevé, hogy a titrálás rendszeres hibái a véletlen hibák mellett elhanyagolhatók.

A titrálás rendszeres hibái az alkalmazott módszer sajátos hibáin (nem teljesen végbemenő reakciók) és a mérlegelés hibáin kívül *az eszközökből származó hibából, a műveletekből származó hibából, a személyi hibából és a módszer hibáiból* tevődnek össze.

Az eszközökből származó hiba. Idesoroljuk a mérőeszközök *kalibrációs hibáit*, amiket ismételt ellenőrzéssel küszöbölhetünk ki. A *leolvasási hibát* többszöri parallaxismentes leolvasással csökkenthetjük. A térfogatmérő eszközök *utánfolyási hibáját* a kalibrálásnál mért kifolyási és utánfolyási idők pontos megtartásával csökkenthetjük.

A műveletekből származó hibák. Ebbe a csoportba sorolhatók azok a hibák, amelyek a helytelenül vagy gondatlanul végzett műveletekből adódnak. Ilyen hibák okozója lehet az oldatba hulló por, a gázfejlődéskor vagy forraláskor keletkező freccsenés, a túl nagy edény alkalmazása, a levegőből abszorbeálódott szén-sav, a mesterséges fénynél való titrálás stb. E hibákat gondos és körültekintő

munkával, a műveletek begyakorlásával és a munkakörülmények helyes megválasztásával kiküszöbölhetjük.

Személyi hiba. Az analitikus személyiségéből, egyéni adottságaiból adódó hibák sorolhatók ide. Sokan például az indikátorok színváltozását nem képesek pontosan észlelni annak ellenére, hogy nem minősíthetők teljesen színvaknak. A személyi hiba különös fajtája az „előítéletből” származó hiba. Ennek az a lényege, hogy mérési eredményeink megállapításánál hajlandók vagyunk előző méréseink eredményei által befolyásoltatni magunkat. Így második vagy harmadik párhuzamos titrálásnál hajlamosak vagyunk inkább a bürettafogyást figyelni, és kisebb figyelmet szentelünk az indikátor színátcsapásának.

A módszer hibái. E hibafajtát az alkalmazott módszer körülményei szabják meg. Okozhatják a nem teljesen végbemenő kémiai folyamatok, az indukált reakciók, a mellékfolyamatok, a csapadékos reakcióknál a csapadék oldhatósága vagy az együttleválás jelensége. A módszer hibája szórásban és állandó eltérésben egyaránt megnyilvánulhat. E hiba nagyságát csak úgy tudjuk megállapítani, hogy pontosan ismert mennyiségű anyaggal végezzük el az elemzést pontos eszközökkel, lehetőleg a személyi hiba elkerülésével. A valódi érték és a titrálással meghatározott érték eltérése megadja a rendszeres hibát, illetve az előző hibák kiküszöbölésével a módszer hibáját. A térfogatos módszereknél majd mindig felépő módszeres hiba a *csepphiba* és az *indikátorhiba*.



8. ábra. Különböző típusú mágneses keverők

Csepphiba. A titrálásnál a mérőoldatot addig adagoljuk a meghatározandó anyag oldatához, míg az utoljára hozzáadott részlet, rendszerint egy csepp, jól észlelhető változást (színváltozás, zavarosság stb.) idéz elő. Ilyenkor valószínű, hogy az oldatot az utoljára hozzáadott mérőoldatrészlettel, rendszerint egy csep-

pel túltitráljuk. Ennek oka egyrészt az, hogy a titrálás végpontját jelző reakció láthatósági határa kicsi, másrészt pedig az, hogy a mérőoldat adagolható legkisebb részlete egy csepp. A csepphibát megfelelő koncentrációjú mérőoldattal, óvatos titrálással és a csepp törtrészeinek adagolásával csökkenthetjük. A csepphibát kolorimetriás vagy potenciometriás úton meg is határozhatjuk és korrekcióba vehetjük.

Az indikátorhiba onnan származik, hogy a reakció végpontját jelző indikátor nem pontosan az ekvivalenciapontban mutat átcsapást, hanem valamivel előbb vagy később. Az indikátorhiba tisztán a lejátszódó kémiai folyamattól és az alkalmazott indikátor természetétől függ, tehát sajátosan jellemző az illető titrálási eljárásra. Nem csökkenthető tetszés szerint; értéke csak akkor nulla, ha az indikátor pontosan az ekvivalenciapontban mutat átcsapást, vagyis ha az indikátor megfelel az ekvivalenciapontnak.

2.2. Acidi-alkalimetria, neutralizációs analízis

Ismeretlen koncentrációjú savaknak ismert koncentrációjú lúgokkal való térfogatos meghatározását *acidimetriának* (savmérésnek) nevezzük. Ehhez hasonlóan **ismeretlen koncentrációjú lúgoknak ismert koncentrációjú savval való térfogatos meghatározását *alkalimetriának* (lúgmérésnek) nevezzük.** Mindkét eljárás alapja a savak és bázisok egymásra hatásakor lejátszódó **közömbösítés**. A végbemenő folyamat:



egyenlettel kifejezett vízképződés.

2.2.1. Az indikátorok működése

Az acidi-alkalimetriás titrálások végpontját indikátorral jelezzük. **Az acidi-alkalimetriás indikátorok gyengén savanyú vagy gyengén bázikus karakterű festékek, melyek savanyú közegben más színt mutatnak, mint lúgos közegben.** A sav, illetve lúg hatására beálló színváltozás festékindikátoroknál rendszerint a molekula belső átrendeződésének következménye.

2.2.1.1. Az indikátorok átcsapása. Indikátorexponens

Erős sav oldata erősen savanyú kémhatású, vagyis az oldat H^+ -koncentrációja nagy (pH-ja kicsi). Ha a savat erős lúggal titráljuk, akkor az oldat H^+ -koncentrációja csökken (pH-ja nő). A savval éppen ekvivalens mennyiségű lúg hozzáadásakor az oldat sem szabad savat, sem szabad lúgot nem tartalmaz. Az oldat H^+ -koncentrációja tehát éppen akkora lesz, mint a tiszta vízé (pH = 7). Ha a titrálandó

erős savhoz olyan indikátort adunk, mely színét éppen a semleges pontban ($\text{pH} = 7$) változtatja, ez a titrálás végpontját pontosan jelzi. A valóságban kevés olyan indikátor akad, amelynek átcsapása éppen a semleges pontba esik. Az indikátorok legnagyobb része vagy a savanyú tartományban (pH kisebb, mint 7), vagy a lúgos tartományban (pH nagyobb, mint 7) mutat színátcsapást. Ez azonban nem jelenti azt, hogy ezek az indikátorok alkalmatlanok az acidi-alkalimetriás titrálások végpontjának jelzésére. A savak és bázisok ekvivalenciapontja ugyanis nem mindig esik egybe a semleges ponttal. Ilyenkor tehát olyan indikátort kell választanunk, melynek átcsapása az ekvivalenciapont közelébe esik. Máskor viszont a titrálendő oldat és a mérőoldat koncentrációjának növelésével az indikátorhibát annyira csökkenthetjük, hogy tágabb pH -tartományban átcsapó indikátorok között is válogathatunk.

Az indikátorok jellemzésére két adat szolgál: az indikátor *átcsapási pontja* vagy *indikátorexponense*, és az indikátor *átcsapási tartománya*.

Az indikátor átcsapási pontja (indikátorexponens) alatt azt a pH -értéket értjük, amelynél az indikátor savanyú vagy lúgos alakja egyenlő koncentrációban van jelen. Egy HA indikátorsav disszociációjára érvényes a tömeghatás törvénye:

$$\frac{[H^+] \cdot [A^-]}{[HA]} = K_s.$$

Az indikátorok savmaradékionja $[A^-]$ és disszociálatlan molekulája $[HA]$ különböző színű. Az átcsapási pontban a savmaradékion koncentrációja megegyezik a disszociálatlan sav koncentrációjával: $[A^-] = [HA]$; ezekkel egyszerűsítve:

$$[H^+] = K_s.$$

Az átcsapási pont H^+ -koncentrációja tehát számszerűen megegyezik az indikátorsavak disszociációs egyensúlyi állandójával. Ha az egyenlet mindkét oldalának negatív logaritmusát vesszük, akkor (mivel $-\log [H^+] = \text{pH}$):

$$\text{pH} = -\log K_s.$$

Vagyis az átcsapási pont pH -ja indikátorsavak esetében megegyezik az egyensúlyi állandó negatív logaritmusával. Ezt a negatív logaritmust (kitevőt) *indikátorexponensnek* nevezzük és pK_i -vel jelöljük.

Indikátorbázis esetében az indikátorexponens értékét a következőképpen számítjuk ki. A BOH képletű indikátorbázis disszociációjára érvényes a tömeghatás törvénye:

$$\frac{[B^+] \cdot [OH^-]}{[BOH]} = K_b.$$

A K_b -t a víz ionszorzatával elosztva az alábbi összefüggéshez jutunk:

$$\frac{[BOH] \cdot [H^+]}{[B^+]} = \frac{K_v}{K_b},$$

ahol $K_v = [H^+] \cdot [OH^-] =$ a víz ionszorzata. Számértéke: $K_v = 10^{-14}$.

$$\text{Az átcsapási pontban } [BOH] = [B^+], \text{ tehát } [H^+] = \left[\frac{10^{-14}}{K_b} \right].$$

Az egyenlet mindkét oldalának negatív logaritmusát véve,

$$-\log K_b = pK_b, \quad \text{pH} = 14 - pK_b.$$

Indikátorbázisok esetében tehát az indikátorexponens számértékét úgy kapjuk meg, hogy a víz ionexponensének (14) számértékéből levonjuk az indikátorbázis exponensét (pK_b).

Ha $pK_i = 7$, vagy attól csak kevéssé tér el, akkor az indikátor egyenlően érzékeny a H^+ - és OH^- -ra. Ha pK_i kisebb 7-nél, akkor az indikátor savakra kevésbé érzékeny, mint lúgokra. Ha pK_i viszont 7-nél nagyobb, akkor az indikátor savakra érzékenyebb.

Az indikátor átcsapási tartománya. A szem érzékenysége színváltozásokra eléggé korlátozott. Az egyik szín mellett általában csak akkor veszi észre a másikat, ha az a másiknak legalább 10%-át teszi ki. Ebből következik, hogy az átcsapási intervallum ($pK_i - 1$) pH-nál kezdődik és ($pK_i + 1$) pH-nál végződik. Előbbi esetben a lúgos közegben állandó forma a savanyú formának 10%-át teszi ki, utóbbi esetben pedig a savanyú forma 10%-a a lúgos formának. A legtöbb indikátor átcsapási tartománya tehát 2 pH-egység. Az indikátorok többségénél már 0,2 pH-változás az átcsapási pont környezetében észrevehető színváltozást okoz. Egyes titrálásoknál a csapadék képződését vagy oldódását, a színes komplex keletkezését vagy megszűnését, a fluoreszcencia- vagy a lumineszcenciajelenség fellépését vagy eltűnését használhatjuk fel a titrálás végpontjának jelzésére.

2.2.1.2. Keverékindikátorok

Az indikátorok átcsapási intervalluma nem változik meg más színes anyag jelenlétében, csupán a szubjektív színérzet változik az oldat összes extinkciójának megváltozása következtében. Néhány indikátor színátcsapása élesebbé és kontrasztosabbá tehető, ha az oldat egyidejűleg más színű, és az átcsapási intervallum környezetében ugyancsak átcsapást mutató indikátort vagy színét nem változtató festéket tartalmaz. Így például előnyös a sárga–vörös átcsapást mutató indikátorhoz (metilnarancs, dimetilsárga, metilvörös) valamilyen kék színű festéket (metilénkék) keverni. Az önmagában indikátortulajdonságokat nem mutató kék festék a kevéssé kontrasztos sárga–vörös átcsapást kontrasztosabb zöld–ibó-

lya átcsapássá változtatja. E két utóbbi szín közelítőleg komplementer, és így az átmenet igen szűk tartományra szorítkozó sűrű tónusban mutatkozik meg. A keverékindikátorok igen előnyösek gyengén színes oldatban vagy mesterséges világítás mellett. Igen szűk átcsapási intervallumuk folytán olyan titrálásoknál is használhatók, melyeknél a többi indikátor nem mutat éles átcsapást.

2.2.1.3. A kísérleti körülmények hatása az indikátorok átcsapására

Hőmérséklet-emelkedés hatására az indikátorok átcsapási pontja a semleges pont felé tolódik el. Ennek oka főleg az, hogy a víz ionszorzata nagymértékben változik a hőmérséklettel, míg az indikátorok egyensúlyi állandójának változása viszonylag kicsi. Bázisokra érzékeny indikátorok (metilnarancs, metilvörös) átcsapása meleg oldatban általában igen bizonytalan, míg savakra érzékeny indikátorok (fenolftalein, timolftalein) átcsapása a forrási hőmérsékleten is éles. Bázisokra érzékeny indikátorok jelenlétében tehát csak hideg oldatban lehet titrálni. Ha a titrálást valamilyen oknál fogva forralni kell, a titrálást a lehűtés után fejezzük be.

Az oldatok szén-dioxid-tartalma. Levegőn végzett titrálásoknál számolnunk kell azzal, hogy oldataink szén-dioxidot tartalmaznak. A vízben oldott szén-dioxid, mint gyenge sav, megváltoztatja az indikátor színét. *Mindazok az indikátorok, amelyek indikátorexponense 4-nél nagyobb* (metilvörös, fenolftalein, timolftalein), *szén-dioxidra érzékenyek.* Az ezekkel végzett titrálásoknál tehát különös gondot kell fordítanunk a levegő szén-dioxidjának távoltartására. Ez úgy történhet, hogy oldataink készítésére frissen kiforralt és lehűtött vizet használunk. A 0,1 MPa nyomású CO_2 -dal telített víz pH-ja 3,9 körül van. A közönséges levegő szén-dioxidjával egyensúlyban lévő vizes oldat pH-ja viszont csak csupán 6 körüli érték. Ez tehát azt jelenti, hogy sok CO_2 -ot tartalmazó vízen közönséges levegőt átszívva a víz CO_2 -tartalma annyira csökken, hogy az említett indikátorokat már nem zavarja. Karbonátok titrálása alkalmával a felszabaduló szén-dioxidot úgy távolítjuk el, hogy az oldatot a végpont elérése előtt felforraljuk, majd a titrálást gyors lehűtés után fejezzük be. Fenolftaleinindikátort használva, a titrálást forró oldatban is végezhetjük.

Az indikátorkoncentráció befolyása különösen az egyszínű indikátoroknál nagy, mivel itt a színes forma láthatósági határa szabja meg az indikátor átcsapási pontját. Így pl. míg sok fenolftaleinnél az első észrevehető rózsaszínű színeződés pH = 8,2-nél jelenik meg, addig kevés fenolftalein alkalmazása esetén észrevehető színeződést csak pH = 9,2-nél észlelünk. A kétszínű indikátorok koncentrációjának befolyása az átcsapásra több körülménytől függ (viszonylagos színerősség, a két indikátornak különböző oldhatósága stb.). Túl sok indikátor alkalmazása esetén az átcsapás általában kevésbé éles.

Az alkohol befolyása az indikátorok átcsapására. Igen sok titrálást alkoholos közegben vagy alkohol-víz elegyében kell végezni. Régi alkohol alkalmazása esetén számolnunk kell azzal, hogy oxidáció folytán ecetsavat tartalmaz-

hat, és így savanyú kémhatású. Oldószerül való alkalmazása esetén tehát vagy vakpróbát kell végezni a felhasznált mennyiséggel, vagy az oldószert előzőleg közömbösíteni kell.

2.2.1.4. Néhány acidi-alkalimetriás indikátor

Metilnarancs. Savanyú közegben vörös, lúgos közegben sárga színű. Érzékenysége bázisokra nagy, savakra kicsi. **Erős vagy gyenge bázisok és erős savak titrálásánál alkalmazzuk.** Gyenge savakra nem érzékeny, és így a szénsav alig zavarja. 0,1%-os vizes oldatát használjuk forralás és szűrés után. 20 cm³ titrálandó oldathoz 1 csepp indikátort használunk.

Dimetilsárga. Színe, átcsapási intervalluma és indikátorexponense ($pK_i = 3,9$) kb. ugyanolyan, mint a metilnarancsé. Átcsapása valamivel kontrasztosabb. **Erős és gyenge bázisok, valamint erős savak titrálásánál alkalmazzuk.** Indikátorhibája valamivel nagyobb, szénsavérzékenysége viszont valamivel kisebb, mint a metilnarancsé. 0,1%-os alkoholos oldatából 20 cm³ titrálandó oldatra 2 csepp indikátort használunk.

Metilvörös. Indikátorexponense: $pK_i = 5,3$, átcsapási intervalluma pH = 4,4–6,2. Savanyú közegben élénkvörös, lúgos közegben sárga színű. **Erős és gyenge bázisok, valamint erős savak titrálásánál alkalmazzuk.** Gyenge savakra kissé érzékenyebb, mint a metilnarancs, ezért a szénsav kissé zavarja. A szénsav zavaró hatását lúgok titrálásánál úgy küszöböljük ki, hogy a színátcsapásig titrált oldatot kb. 5 percig forraljuk, és a megsárgult és teljesen lehűtött oldatot újból a végpontig titráljuk. Készítése: 0,2 g szilárd metilvöröst 60 cm³ alkoholban oldunk, és az oldatot vízzel 100 cm³-re egészítjük ki. 20 cm³ titrálandó oldathoz 2 csepp indikátort használunk. A metilvörös híg, erős savak titrálására különösen alkalmas, mert kicsi az indikátorhibája.

Fenolftalein. Indikátorexponense: $pK_i = 8,4$, átcsapási intervalluma pH = 8,2–10. Savanyú közegben színtelen, lúgos közegben vörös. **Erős és gyenge savak, valamint erős bázisok titrálásánál alkalmazzuk.** Szén-dioxid a fenolftaleint zavarja, ezért a titrálás befejezése előtt a szén-dioxidot a savanyú vagy semleges oldat forralásával el kell távolítani. Lúgok titrálásánál a levegő szén-dioxidját távol kell tartani. 1 g fenolftaleint 60 cm³ alkoholban oldunk és vízzel 100 cm³-re egészítjük ki. 20 cm³ titrálandó oldatra 2 csepp indikátort használunk. Erősen lúgos közegben a fenolftalein fenolát képződése közben elszíntelenedik.

Metilvörös-metilénkék keverékindikátor. 1 térfogat 0,2%-os alkoholos metilvörös és 1 térfogat 0,1%-os alkoholos metilénkék keveréke. Indikátorexponense: $pK_i = 5,4$. Színe savanyú közegben vöröses-ibolya, lúgos közegben zöld. Színátcsapása igen éles: pH = 5,3-nál vöröses-ibolya, 5,4-nél piszkoskék, 5,6-nál piszkoszöld. Szénsavra éppen annyira érzékeny, mint a metilvörös. **Erős és gyenge bázisok, valamint erős savak titrálásánál alkalmazzuk.** 20 cm³ oldatra 2 csepp indikátorkeveréket használunk.

2.2.2. Ekvivalenciapont

Erős savak és erős bázisok közömbösítésénél a titrálás végpontját akkor érjük el, amikor az oldatban a H^+ -ionok koncentrációja egyenlővé válik az OH^- -ionok koncentrációjával, vagyis az oldat semleges kémhatású lesz ($pH = 7$). Más az eset azonban a gyenge savak és gyenge bázisok titrálása alkalmával. Ha gyenge savat erős bázissal titrálunk, a gyenge sav sója keletkezik, ami a hidrolízis folytán lúgos kémhatást mutat. Ha viszont gyenge bázist titrálunk erős savval, olyan só keletkezik, amelynek kémhatása hidrolízis révén savanyú.

Azt a pH-értéket, amelyre az oldat ekvivalens mennyiségű sav és bázis egymásra hatásakor beáll, ekvivalenciapontnak vagy titrálási exponensnek nevezzük. Az ekvivalenciapont nem egyezik meg feltétlenül a semleges ponttal, hanem ettől – gyenge savak és gyenge bázisok titrálása esetén – többé-kevésbé eltérhet. *A reakció végpontját jelző indikátort úgy kell megválasztanunk, hogy annak indikátorexponense az ekvivalenciapont közelébe essék.* Az ekvivalenciapont meghatározása történhet kísérleti úton vagy számítással. *Az ekvivalenciapont kísérleti meghatározása* tulajdonképpen pH-mérési feladat. Erre bármelyik kolorimetriás vagy potenciometriás pH-mérési módszer megfelel. *Az ekvivalenciapont számítással való megállapítása* a titrálás folyamán keletkező só hidrolízis-egyensúlyának tanulmányozása útján történhet.

2.2.2.1. Az ekvivalenciapont számítása

Erős savak és erős bázisok egymásra hatásakor keletkező sók hidrolízise gyakorlatilag elhanyagolható mértékű, ezek ekvivalenciapontja tehát megegyezik a semleges ponttal: $pH = 7$.

Gyenge savaknak erős bázissal való közömbösítésekor keletkező normális sóhidrolízis révén gyengén lúgos kémhatású, az ekvivalenciapont pH-ja tehát nagyobb 7-nél. Az oldat pH-ja függ a gyenge sav disszociációs egyensúlyi állandójától és az oldat koncentrációjától. A gyenge sav sójának hidrolízisére vonatkozó egyensúlyból a következő összefüggés vezethető le:

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_{\text{víz}} \cdot K_s}{c}},$$

ahol $K_{\text{víz}}$ a víz ionszorzata (számértéke szobahőmérsékleten 10^{-14}), K_s a sónak megfelelő gyenge sav disszociációs egyensúlyi állandója, c a só koncentrációja mol/dm^3 -ben kifejezve. Ha a fenti kifejezés negatív logaritmusát vesszük, a következő kifejezést kapjuk:

$$pH = 7 + \frac{1}{2}pK_s + \frac{1}{2}\log c,$$

ahol: $pK_s = -\log K_s = \text{savexponens}$.

Az összefüggésből ki tudjuk számítani a gyenge savak ekvivalenciapontjának pH-ját. Ki lehet számolni például, hogy milyen pH-ig kell a 0,1 M ecetsavat titrálnunk 0,1 M NaOH-dal. Mivel a közömbösítés befejezésekor a keletkező Na-acetát kétszer akkora térfogatban van, mint az ecetsav, a koncentráció $c = 0,05$ M. Az ecetsav disszociációs egyensúlyi állandója $K_s = 1,8 \cdot 10^{-5}$ ($pK_s = 4,75$).

$$pH = 7 + \frac{1}{2}4,75 + \frac{1}{2}\log 0,05 = 8,72$$

Az ekvivalenciapont pH-ja 8,72. A titrálást tehát fenolftaleinindikátor jelenlétében végezhetjük, mert ez a pH-érték a fenolftalein átcsapási intervallumába esik.

Többértékű savak titrálásánál elvileg megvan a lehetőség arra, hogy a titrálást normális só vagy savanyú só képződéséig folytassuk. Tulajdonképpen hasonló a helyzet több, különböző erősségű sav egymás melletti meghatározásánál is. A titrálás megvalósításának lehetősége az egyes disszociációs állandók nagyságától és viszonyától függ. Ha a titrálást normális só képződéséig folytatjuk, az ekvivalenciapont kiszámítására az utolsó, a legkisebb egyensúlyi állandó a mérvadó. A számítást éppen úgy végezzük, mintha csak egy sav lenne jelen. A borkősav két disszociációs állandója például közönséges hőmérsékleten $K_1 = 9,7 \cdot 10^{-4}$ és $K_2 = 9 \cdot 10^{-5}$. A borkősav tehát a normális só képződéséig éppen úgy titrálható, mint egy $9 \cdot 10^{-5}$ egyensúlyi állandójú egybázisú sav. Hasonló az eset a citromsavnál ($K_1 = 8 \cdot 10^{-4}$, $K_2 = 5 \cdot 10^{-5}$ és $K_3 = 2 \cdot 10^{-6}$), ami simán megtitrálható, mint $2 \cdot 10^{-6}$ egyensúlyi állandójú egybázisú sav. A foszforsav harmadik egyensúlyi állandója ($K_3 = 3,6 \cdot 10^{-13}$) oly kicsi (az ekvivalenciapont pH-ja 13 körül), hogy a titrálás nem végezhető el. Ily esetben a titrálást csak savanyú só képződéséig végezzük.

Savanyú só képződéséig csak akkor titrálhatunk meg valamilyen többértékű savat, ha a megfelelő egyensúlyi állandók hányadosa – elméleti megfontolások alapján – legalább 10 000. Az ekvivalenciapont hidrogénion-koncentrációját a sav első (K_1) és második (K_2) egyensúlyi állandójából a következő kifejezés alapján számíthatjuk ki:

$$[H^+] = \sqrt{K_1 \cdot K_2}.$$

Az ekvivalenciapont pH-ját megkapjuk, ha e kifejezések negatív logaritmusát vesszük:

$$pH = 1/2 (pK_1 + pK_2).$$

Az ekvivalenciapont tehát az oldat koncentrációjától független. Lényegileg ugyanezek a feltételek és kifejezések érvényesek két különböző erősségű sav egymás melletti meghatározására is. A foszforsav esetében az egyensúlyi állandók: $K_1 = 1,1 \cdot 10^{-2}$, $K_2 = 2 \cdot 10^{-7}$, $K_3 = 3,6 \cdot 10^{-13}$. Az egyensúlyi állandók viszonya: $K_1/K_2 = \text{kb. } 10^5$ és $K_2/K_3 = \text{kb. } 2 \cdot 10^5$. A foszforsav tehát mint egybázisú sav és mint kétbázisú sav is titrálható. A megfelelő titrálási exponensek pH = 4,35 és 9,57.

A **gyenge bázisoknak** erős savakkal való titrálásánál az ekvivalenciapont hidrogénion-koncentrációja, illetve pH-ja a keletkező só hidrolízisének egyensúlyából a gyenge savakhoz hasonlóan vezethető le. A számítások eredményei a következők:

$$[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_v \cdot c}{K_b}}.$$

A titrálási exponens:

$$\text{pH} = 7 - \frac{1}{2}\text{p}K_b - \frac{1}{2}\log c,$$

ahol $\text{p}K_b = -\log K_b$, c pedig a keletkező só mólkoncentrációja az ekvivalenciapontban. A többértékű savak titrálására vonatkozó törvényszerűségek vonatkoznak a *többértékű bázisokra* is. Ha tehát egy többértékű bázist normális sóig akarunk közömbösíteni, úgy a titrálási exponenst a legkisebb egyensúlyi állandóból számítjuk ki. A többértékű bázist bázisos sóig csak akkor titrálhatjuk, ha a megfelelő egyensúlyi állandók viszonya legalább 10 000. A titrálási exponenst ez esetben a következő képlettel számíthatjuk ki:

$$\text{pH} = 14 - 1/2 (\text{p}K_1 + \text{p}K_2).$$

A savak és bázisok titrálási exponensének kiszámításához ismernünk kell tehát a disszociációs egyensúlyi állandókat. A leggyakrabban előforduló savak és bázisok egyensúlyi állandóit, valamint a megfelelő exponenseket az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat. *Néhány gyenge sav és gyenge bázis disszociációs egyensúlyi állandója 20 °C-on*

<i>Savak</i>		K_{sav}	$\text{p}K_s$	<i>Bázisok</i>	$K_{bázis}$	$\text{p}K_b$
H_3AsO_3	K_1	$6 \cdot 10^{-10}$	9,22	Ammónia	$1,87 \cdot 10^{-5}$	4,76
H_3AsO_4	K_1	$5 \cdot 10^{-3}$	2,30	Hidrazin	$3 \cdot 10^{-6}$	5,52
H_3BO_3	K_1	$6 \cdot 10^{-10}$	9,22	Hidroxil-amin	$1 \cdot 10^{-8}$	8,00
H_2CO_3	K_1	$3 \cdot 10^{-7}$	6,52	Etil-amin	$5,6 \cdot 10^{-4}$	3,25
H_2CO_3	K_2	$6 \cdot 10^{-11}$	10,22	Dietil-amin	$1,3 \cdot 10^{-3}$	2,90
H_3PO_4	K_1	$1,1 \cdot 10^{-2}$	1,96	Anilin	$4,6 \cdot 10^{-10}$	9,34
H_3PO_4	K_2	$2 \cdot 10^{-7}$	6,7	Piridin	$1,25 \cdot 10^{-9}$	8,90
H_3PO_4	K_3	$3,6 \cdot 10^{-13}$	12,44	Brucin K_1	$9 \cdot 10^{-7}$	6,04
H_2SO_4	K_2	$3 \cdot 10^{-2}$	1,52	Brucin K_2	$2 \cdot 10^{-12}$	11,7
H_2SO_3	K_1	$1,7 \cdot 10^{-2}$	1,77	Kinin K_1	$1 \cdot 10^{-6}$	6,0
H_2SO_3	K_2	$1 \cdot 10^{-10}$	7,00	Kinin K_2	$1,3 \cdot 10^{-10}$	9,89
H_2S	K_1	$5,7 \cdot 10^{-8}$	7,24	Kokain	$2,6 \cdot 10^{-6}$	5,6
H_2S	K_2	$1,2 \cdot 10^{-15}$	14,92	Kodein	$9 \cdot 10^{-7}$	6,05
Hidrogén-fluorid ...		$3,7 \cdot 10^{-4}$	3,43	Koniin	$1 \cdot 10^{-3}$	3,0
Hangyasav.....		$2 \cdot 10^{-4}$	3,70	Morfin	$7,4 \cdot 10^{-7}$	6,13

Savak	K_{sav}	pK_s	Bázisok	$K_{bázis}$	pK_b
Borostyánkősav K_1	$6,5 \cdot 10^{-5}$	4,18	Nikotin K_1	$7 \cdot 10^{-7}$	6,16
Borostyánkősav K_2	$5,9 \cdot 10^{-6}$	5,23	Nikotin K_2	$1,4 \cdot 10^{-11}$	10,86
Citromsav K_1	$8 \cdot 10^{-4}$	3,10	Papaverin	$8 \cdot 10^{-9}$	8,1
Citromsav K_2	$5 \cdot 10^{-5}$	4,30	Piperidin	$1,6 \cdot 10^{-3}$	2,80
Citromsav K_3	$2 \cdot 10^{-6}$	5,70	Sztrichnin K_1	$1 \cdot 10^{-6}$	6,0
Hidrogén-cianid ...	$7 \cdot 10^{-10}$	9,14	Sztrichnin K_2	$2 \cdot 10^{-6}$	11,7
Ecetsav	$1,86 \cdot 10^{-5}$	4,73			
Tejsav	$1,5 \cdot 10^{-4}$	3,82			
Oxálsav K_1	$3,8 \cdot 10^{-2}$	1,42			
Oxálsav K_2	$3,5 \cdot 10^{-5}$	4,46			
Borkősav K_1	$9,7 \cdot 10^{-4}$	3,01			
Borkősav K_2	$9 \cdot 10^{-5}$	4,05			
Benzoészav.....	$6,86 \cdot 10^{-5}$	4,16			
Fenol	$1,3 \cdot 10^{-10}$	9,89			
Pikrinsav	$1,6 \cdot 10^{-1}$	0,80			
Szalícilsav.....	$1,06 \cdot 10^{-3}$	2,97			

2.2.3. A hidrogénion-koncentráció változása titrálás közben

Savak, illetve bázisok titrálásához olyan indikátort kell választanunk, melyek indikátorexponense az ekvivalenciapont közelébe esik. Az átcsapás élessége szempontjából igen fontos azonban tudnunk azt is, hogy a titrálás folyamán milyen az oldat hidrogénion-koncentrációjának változása az ekvivalenciapont környezetében. **Ha ugyanis az ekvivalenciapont környezetében az oldat pH-jának változása nem eléggé ugrásszerű, a titrálás végpontját nem tudjuk pontosan megállapítani,** még akkor sem, ha az átcsapás pontosan az ekvivalenciapontban következik be. Az indikátor helyes megválasztása, valamint az eredmény várható pontossága szempontjából fontos tehát, hogy ismerjük az oldat pH-jának változását a közömbösítés folyamán.

2.2.3.1. A pH változása erős sav, illetve erős bázis titrálása közben

0,1 M HCl titrálása: Vizsgáljuk meg 100 cm³ 0,1 M sósav pH-jának változását 1 M NaOH-dal való titrálás közben. A beálló térfogatváltozást hanyagoljuk el. A HCl erős sav, tehát 0,1 M oldatban teljesen disszociálnak tételezhető fel. Kiinduláskor az oldat pH-ja 1
9,00 cm³ 1 M NaOH hozzáadásával az oldatban levő sav 90%-át közömbösítjük, tehát az eredeti oldat hidrogénion-koncentrációja 1/10-ére csökken. Az oldat pH-ja 2
9,90 cm³ 1 M NaOH hozzáadására az oldat hidrogénion-koncentrációja az eredetinek 1/100-ára csökken, pH-ja 3

9,99 cm³ (vagyis további 0,09 cm³) 1 M NaOH hatására az oldat hidrogénion-koncentrációja újabb 10-es hatvánnyal csökken, pH-ja: 4

10,00 cm³ 1 M NaOH hozzáadására elérjük az ekvivalenciapontot, az oldat pH-ja tehát megegyezik a tiszta vízével: pH 7

0,01 cm³ 1 M NaOH felesleg hatására az oldat NaOH-ra nézve 10⁻⁴ M lesz, vagyis az oldat pH-ja 10

0,10 cm³ 1 M NaOH felesleg az oldat hidrogénion-koncentrációját tovább csökkenti: pH 11

1,00 cm³ 1 M NaOH felesleg hozzáadásakor: pH 12

10,00 cm³ 1 M NaOH felesleg hozzáadásakor: pH 13

Az ekvivalenciapont előtt 0,1%-kal (9,99 cm³ 1 M NaOH hozzáadása után) az oldat pH-ja tehát 4, míg 0,1%-kal az ekvivalenciapont után (0,01 cm³ 1 M NaOH-fölösleg) 10-re változik. A pH-ugrás tehát igen jelentékeny. *Ha tehát 0,1 M erős savat erős bázissal 0,1%-nál pontosabban akarunk közömbösíteni, a végpont meghatározására minden olyan indikátort használhatunk, amelyek indikátorexponense pH = 4 és 10 közé esik* (metilnarancs–timoltalein). Ennél töményebb (1 M) savaknál a viszonyok még kedvezőbbek. Az ekvivalenciapont környezetében igen kis lúg- vagy savmennyiség igen nagy pH-változást idéz elő.

0,01 M HCl titrálása: 100 cm³ 0,01 M HCl pH-ja erős lúggal való titráláskor a következőképpen változik. Hogy a beálló térfogatváltozást elhanyagolhassuk, végezzünk közömbösítést 1 M NaOH-dal. A teljes közömbösítéshez összesen 1,000 cm³ 1 M NaOH-ra lesz szükségünk.

A pH változását a következő összeállítás mutatja:

0,000 cm ³ 1 M NaOH	0%-os közömbösítés	pH = 2
0,900 cm ³ 1 M NaOH	90%-os közömbösítés	pH = 3
0,990 cm ³ 1 M NaOH	99%-os közömbösítés	pH = 4
0,999 cm ³ 1 M NaOH	99,9%-os közömbösítés	pH = 5
1,000 cm ³ 1 M NaOH	100%-os közömbösítés	pH = 7
1,001 cm ³ 1 M NaOH	0,1% NaOH-fölösleg	pH = 9
1,010 cm ³ 1 M NaOH	1% NaOH-fölösleg	pH = 10
1,100 cm ³ 1 M NaOH	10% NaOH-fölösleg	pH = 11
2,000 cm ³ 1 M NaOH	100% NaOH-fölösleg	pH = 12

Amikor 0,01 M erős savat erős bázissal akarunk titrálni 0,1% pontossággal, csak olyan indikátort használhatunk, amelynek indikátorexponense pH = 5 és 9 közé esik (metilvörös–fenoltalein). 0,01 M-nál hígabb erős savak vagy erős bázisok titrlálásánál az átmenet már oly szűk intervallumra (pH = 6–8) korlátozódik, hogy a megkívánt pontosságú titrlás csak pontosan a semleges pontban átcsapó indikátor használatával és a levegő szén-dioxidjának teljes kizárásával valósítható meg.

2.2.3.2. A pH változása gyenge sav és gyenge bázis közömbösítése alkalmával

A viszonyokat ecetsavnak NaOH-dal való közömbösítésén tanulmányozhatjuk. Vizsgáljuk meg tehát példaképpen a pH változását 100 cm^3 $1\text{ M CH}_3\text{COOH}$ -nak 1 M NaOH -dal való titrálása közben. A titrálás közben beálló térfogatváltozást itt is hanyagoljuk el. A pontos közömbösítéshez 10 cm^3 1 M NaOH -ra van szükségünk. A pH változása a titrálás elején viszonylag nagy, mivel a keletkező acetát az ecetsav disszociációját visszaszorítja. Az 50%-os közömbösítés környezetében a pH változása kicsivé válik, vagyis az oldat pufferkapacitása itt a legnagyobb. Ezután a pH ismét csökken, majd az ekvivalenciapont környezetében 7 és 10 pH-érték között erős ugrás mutatkozik. Az oldat pH-ja már a titrálás elején a metilnarancs átcsapási intervallumába esik. Csak a fenolftalein átcsapási intervalluma foglalja magában az ekvivalenciapontot, ezért csak a fenolftalein jön tekintetbe a titrálás végpontjának jelzésére.

Gyenge bázisnak erős savakkal való titrálása alkalmával a gyenge savéhoz hasonló a pH-változás, csak annak lefutása fordított. Az ekvivalenciapont ugyanis ezeknél a savanyú tartományba esik. Az átcsapás szélessége a gyenge bázisok titrálásakor is csökken a disszociációs állandó csökkenésével. $K_b = 10^{-9}$ -nél kisebb egyenlí állandójú gyenge bázis még 1 M koncentrációban sem mutat éles átcsapást.

Gyenge savaknak gyenge bázisokkal való titrálása alkalmával az ekvivalenciapont a $\text{pH} = 7$ környezetébe esik. A pH változása a hidrolízis folytán általában kicsi, tehát a titrálás csak kedvező körülmények között végezhető el pontosan. A gyakorlatban emiatt **gyenge savakat mindig erős bázissal, gyenge bázisokat pedig erős savakkal titrálunk.**

2.2.3.3. A pH mérése

A pH mérésére a gyakorlatban két lehetőség adódik. Az egyik lehetőség szerint **a hidrogénion-koncentráció mérhető hidrogénelektrodokból készített koncentrációs elem segítségével, de mérhető üvegelektrodból és fém-csapadék elektrodból álló galvánelem segítségével is.** A hidrogénelektrodból álló galvánelem potenciálkülönbsége az alábbi összefüggés szerint írható le:

$$\Delta\epsilon = \epsilon_1 + \epsilon_2 = \frac{0,0592}{2} \log \frac{[\text{H}^+]}{1} = 0,0592 \text{ pH}.$$

Az egyenletet átrendezve és figyelembe véve, hogy $-\log [\text{H}^+] = \text{pH}$, a következő összefüggést kapjuk:

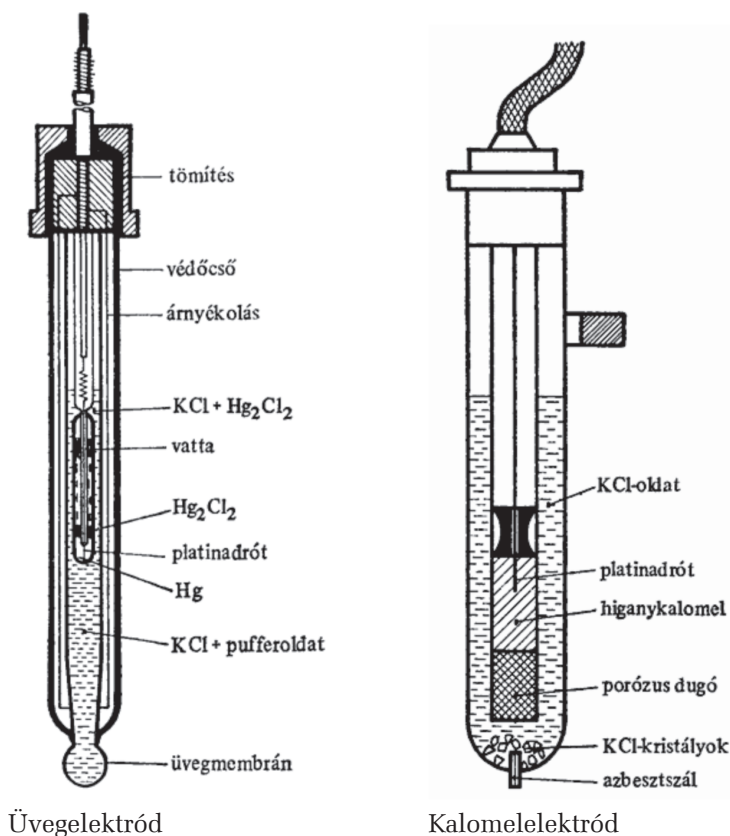
$$\text{pH} = \frac{\Delta\epsilon}{0,0592},$$

azaz **a pH egyenesen arányos a koncentrációs elem potenciálkülönbségével, vagyis az ismeretlen hidrogénion-koncentrációjú oldatból készített hidrogénelektrod potenciáljával.**

A gyakorlatban a hidrogénelektrodok helyett a könnyebben kezelhető **üvegelektrod** használják az ismeretlen hidrogénion-koncentráció meghatározására, amelynek potenciálját fém-csapadék elektródra mint referenciaelektrodra vonatkoztatják. Az üvegelektrod olyan vékonyfalú üvegmembrán, amelynek belsejében állandó koncentrációjú higított sósav van. Ismeretlen hidrogénion-koncentrációjú oldatba mártva a membránt annak belső és külső felszíne között potenciálkülönbség alakul ki. Az üvegelektrod potenciálját az $\text{AgCl(s)} \mid \text{Ag}^+$ másodfajú elektróddal összekapcsolt galvánelemmel határozzák meg, aminek potenciálkülönbsége:

$$\Delta\varepsilon = \text{konstans} + 0,0592 \text{ pH},$$

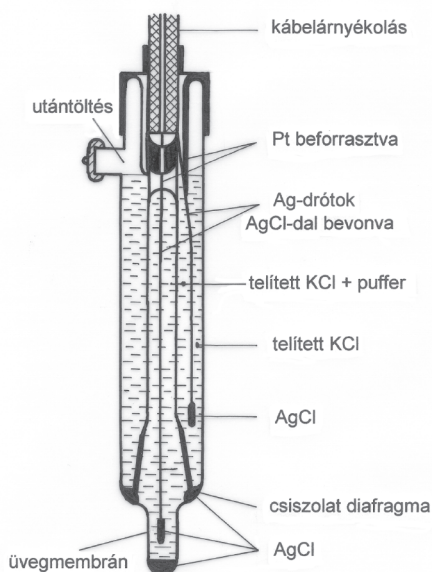
egyenesen arányos a pH-val, a konstans értéke pedig az üvegelektrod minőségétől függ. A pH-méréshez használt üvegelektrod és kalomelektrod, valamint az üveg- és kalomelektrodot együttesen tartalmazó kombinált elektród szerkezetét a 9. ábra mutatja.



9/1. ábra. Elektródák I.

A gyakorlati mérés során az elektródák segítségével a készüléket ismert pH-jú pufferekre állítjuk be, ügyelve arra, hogy a beállításra használt puffer és a meghatározni kívánt minta pH-ja hasonló tartományba essen. Precíziós pH-mérőkkel az ismeretlen oldat pH-ját kéttizedes pontossáig lehet mérni.

A pH közelítő mérésére alkalmasak a különböző **indikátorpapírok** is, melyek színüket a pH függvényében változtatják. Az univerzál indikátorpapír például savas körülmények között vörös, mely a semleges tartomány felé folyamatosan sárgába megy át, majd a lúgos tartományban intenzív kék színű lesz. Ismerünk olyan indikátorpapírokat, melyek szélesebb pH-tartományban használhatók, valamint olyanokat is, amelyek egy szűkebb tartományban, de pontosabb pH-mérésre alkalmasak.



Kombinált üvegelektrod

9/2. ábra. Elektrodák II.



Indikátorpapírok

10. ábra. Indikátorpapírok

2.2.4. Mérőoldatok készítése

Az acidi-alkalimetriás titrálásoknál leggyakrabban a következő mérőoldatokat használjuk: 1 M HCl; 0,5 M HCl; 0,1 M HCl és 1 M NaOH; 0,1 M NaOH; 0,1 M Ba(OH)₂ és alkoholos közegben végzett titrálásoknál, valamint zsírok és olajok vizsgálatánál 0,5 M alkoholos KOH. 0,1 M-nál hígabb mérőoldatot rendszerint nem tartunk készenlétben, hanem azt töményebb mérőoldatból, esetről esetre hígítással állítjuk elő.

2.2.4.1. 1 M HCl készítése és beállítása

A sósav, mint erős sav, valamennyi bázis titrálására alkalmas. Forralás alkalmával nem illan el, ha az elpárolgó víz folytonos pótlásával megakadályozzuk, hogy nagyon betöményedjék. Így tehát nem kell tartanunk attól, hogy pl. a szénsav elforralása alkalmával HCl is távozik. Elvileg a sósavhoz hasonlóan használható mérőoldatnak a kénsav és a salétromsav is. Mivel azonban a kénsav a sósavnál valamivel gyengébb, salétromsav alkalmazása esetén pedig oxidáció folytán mellékreakciók is végbemehetnek, e két sav alkalmazása korlátozottabb.

1 M HCl készítése. Mivel a tömény sósavoldat nem állandó összetételű, és párolgása miatt nem mérhető meg kellő pontossággal, egyszerű beméréssel nem készíthető belőle pontos mérőoldat. A gyakorlatban úgy járunk el, hogy a közelítőleg ismert koncentrációjú és kellő tisztaságú tömény sósavból a kelletténél valamivel töményebb oldatot állítunk elő, az oldat hatóértékét jól mérhető anyagra beállítjuk, és a szükséghez mérten vízzel annyira hígítjuk, hogy az oldat közelítőleg 1 M legyen. A kész oldat pontos koncentrációját ezután meghatározzuk. A tömény sósav közelítő HCl-tartalmát sűrűségméréssel állapítjuk meg. Evégből a tömény sósav hőmérsékletét 20 °C-ra állítjuk be és megmérjük a sűrűséget. Alkalmas táblázatból kikeressük, hogy a kapott sűrűségnek hány mol/dm³ HCl-tartalom felel meg. 30 tömegszázaléknál töményebb sósavra az értékeket a 2. táblázatból olvashatjuk ki:

2. táblázat. A sósav sűrűsége és összetétele

Sósav sűrűsége	HCl-tartalom	
	20 °C-on	tömeg%-ban
		mol/dm ³ -ben
1,150	30,14	9,505
1,155	31,14	9,863
1,160	32,14	10,22
1,165	33,16	10,59
1,170	34,18	10,97
1,175	35,20	11,34
1,180	36,23	11,73
1,185	37,27	12,11
1,190	38,32	12,50
1,195	39,37	12,90
1,198	40,00	13,14

A kapott értékekből kiszámíthatjuk, hogy hány cm³ tömény sósav tartalmazza a HCl 1 mólnyi mennyiségét. Bürettából vagy kellő pontosságú mérőhengerből e mennyiségnél valamivel (2 cm³-rel) többet 1000 cm³-es mérőlombikba töltünk, desztillált vízzel felhígítjuk, majd a hőmérséklet-különbség kiegyenlítődése után

vízzel pontosan jelig töltjük. Végül a lombikot üvegdugóval bedugjuk és alaposan összerázzuk.

Az így módon előállított 1 M HCl a kelleténél valamivel töményebb. Ha pontos oldatot akarunk előállítani, akkor ismert mennyiséget pipetázunk ki belőle, és KHCO_3 segítségével megállapítjuk, hogy a mérőlombikban maradt sósavoldatot mennyi vízzel kell még hígítanunk, hogy pontosan 1 M HCl-at kapjunk. Ezt a vízmennyiséget tiszta bürettából mérjük az oldathoz. Összerázás után titrálással megállapítjuk a kapott 1 M HCl pontos koncentrációját.

1 M HCl beállítása KHCO_3 -ra. M_r : 100,19 g. A tiszta KHCO_3 igen alkalmas anyag savak pontos koncentrációjának beállítására. Előnye, hogy:

- nem higroszkópos, és így levegőn minden további nélkül mérhető, valamint
- relatív molekulatömege elég nagy, és így a tömegmérés relatív hibája elhanyagolható.

A kereskedelmi KHCO_3 azonban sohasem teljesen tiszta, és így összetétele nem felel meg pontosan képletének. A tisztátlanabb készítményeket vízben való oldással, szűréssel és alkohollal való kicsapással tisztíthatjuk. A KHCO_3 titrálása közben a következő reakció zajlik le:



A reakció során szénsav szabadul fel. Olyan indikátort kell tehát választanunk, amely szénsavra nem érzékeny, viszont indikátorexponense 3 és 11 közé esik. E célra a metilnarancs és a dimetilsárga felel meg.

Meghatározás: Lemérünk nagyobb mennyiségű (kb. 10 g) KHCO_3 -ot, majd visszaméréssel 2,0–2,5 g-os részleteket mérünk három titráló lombikba. A KHCO_3 részleteket 20–30 cm³ hideg vízben oldjuk, egy csepp metilnarancs indikátort adunk hozzá és 1 M HCl-val addig titráljuk, míg az oldat narancsszínű lesz. Ezután a CO_2 eltávolítására két percig forraljuk; az oldat ekkor rendszerint visszásárgul. Teljes lehűlés után átmeneti színűre titráljuk. Az indikátor átcsapása igen éles. A fenti egyenletből következik, hogy 100,19 g KHCO_3 közömbösítéséhez 1000 cm³ pontos 1 M HCl szükséges. Ha bemérésünk A g volt, akkor erre

$\frac{1000 \cdot A}{100,19}$ cm³ pontos 1 M HCl-nak kellett volna fogynia. Ha a titrálásnál B cm³ mérőoldat fogyott, akkor a mi mérőoldatunk pontos koncentrációja:

$$\frac{1000 \cdot A}{100,19 \cdot B}.$$

A titrálást még legalább kétszer meg kell ismételni.

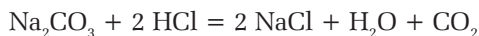
Hibahatár: $\pm 0,2\%$. A pontos koncentrációt háromtizedes pontossággal adjuk meg.

1 M HCl beállítása Na_2CO_3 -ra. A beállításra használt Na_2CO_3 -nak tisztának és vízmentesnek kell lennie. A felhasznált Na_2CO_3 tisztaságát minden esetben

ellenőrizni kell. A készítménynek vízben kristálytisztán kell oldódnia, kloridot és szulfátot nem szabad tartalmaznia.

A vízmentes Na_2CO_3 erősen higroszkópos anyag, ezért bemérés előtt szárítanunk kell. A tiszta, vízmentes Na_2CO_3 -ot platinatégelybe tesszük, és óvatosan homokfürdőbe ágyazva 1 óra hosszat 300°C -on szárítjuk. Eközben a szóda elveszíti nedvességtartalmát, és az esetleges NaHCO_3 -tartalma átalakul Na_2CO_3 -tá. Magasabb hőmérsékletre hevített Na_2CO_3 egy része CO_2 -ot veszítve, átalakul Na_2O -dá és így használhatatlanná válik. A még meleg tégelyt exsikkátorban hagyjuk kihűlni.

Meghatározás: A kiszáritott és lehűlt szódát gyorsan, becsiszolt dugós mérőedénybe öntjük, bedugaszoljuk és analitikai mérlegen pontosan lemérjük. Visszszáméréssel 1,0–1,3 g-os részleteket mérünk három titráló lombikba, ügyelve arra, hogy a mérőedényke fedelét csak rövid ideig tartsuk nyitva. A lemért részleteket 20–30 cm^3 hideg vízben oldjuk, hozzáadunk egy-egy csepp metilnarancs indikátort, majd a beállítandó 1M HCl-oldatunkkal átmeneti színig titráljuk. A végpont végleges megállapítása előtt a CO_2 -ot forralással eltávolítjuk, a rendszerint visszasárgult, lehűtött oldatot óvatosan átmeneti színig titráljuk.



Az egyenlet szerint 1 mól sósav 0,5 mól Na_2CO_3 -tal reagál, tehát 53,00 g Na_2CO_3 -nak 1000 cm^3 pontos 1 M HCl felel meg. A bemért A g szóda közömbösítésére tehát $\frac{1000 \cdot A}{53,00} \text{ cm}^3$ pontos 1 M HCl szükséges. Ha a mi oldatunkból $B \text{ cm}^3$ fogyott a közömbösítésre, akkor a pontos koncentráció:

$$\frac{1000 \cdot A}{53,00 \cdot B}.$$

Ha a három titrálásból megállapított koncentrációk egymástól $\pm 0,2\%$ -nál jobban eltérnek, a meghatározást meg kell ismételni.

Hibahatár: $\pm 0,2\%$. A koncentrációt háromtizedes pontossággal kell megadni.

2.2.4.2. 0,1 M HCl készítése és beállítása

A 0,1 M HCl készítésénél kiindulhatunk 1 M HCl-ből vagy tömény sósavból. Ha pontosan 1 M HCl áll rendelkezésünkre, akkor ebből 100 cm^3 -t, közelítő pontosságú, de ismert koncentrációjú 1 M HCl-ből pedig $\frac{100}{\text{molaritás}} \text{ cm}^3$ -t mérünk be pipettával, illetve bürettával 1000 cm^3 -es mérőlombikba, és vízzel a jelig feltöltjük. A kapott 0,1 M HCl közelítőleg pontos lesz.

A 0,1 M HCl készítését *tömény sósavból* az 1 M HCl előállításához hasonlóan végezzük. Az ismert sűrűségű HCl-ből itt annyit mérünk bürettából egy 1000

cm³-es mérőlombikba, amennyi a HCl molekulatömegének 0,1-részt tartalmazza, illetőleg e mennyiségnél valamivel (0,2 cm³) többet.

0,1 M HCl beállítása KHCO₃-ra. 0,1 M erős sav titrálásánál olyan indikátorok használhatók, amelyeknek átcsapási pontja pH = 4 és 10 közé esik (metilnarancs–fenolftalein). Az indikátorok közül legtöbbször a metilnarancsot és dimetilsárgát részesítjük előnyben, mivel ezek szénsva kevésbé érzékenyek. 0,1 mólos savak és bázisok titrálásánál azonban ezeknek az indikátoroknak a hibája oly nagy, hogy túllépi a büretta leolvasási hibáját.

Ha metilnarancsra vagy dimetilsárgára beállított 0,1 M sósavunkat a későbbiekben csak metilnarancs vagy dimetilsárga jelenlétében használjuk, a titrálási hiba kiesik. Ha azonban a metilnarancsra beállított mérőoldatunkat fenolftalein-indikátor mellett akarjuk használni, az indikátorhibát tekintetbe kell vennünk, vagyis a mérőoldat *abszolút* koncentrációját is meg kell állapítanunk.

A beállítás menete: A CO₂-dal töltött exszikkátorban megszárított KHCO₃-ból visszaméréssel titrálólombikba mérünk 0,20–0,25 g-ot, kb. 20 cm³ hideg vízben feloldjuk, egy csepp metilnarancs indikátort adunk hozzá, és a beállítandó 0,1 M HCl-val átmeneti színig titráljuk. Az oldatból a CO₂-ot két percig tartó forralással eltávolítjuk, a folyadékot vízcsap alatt lehűtjük, és a visszasárgult oldatot pontosan átmeneti színre titráljuk. Ha a bemért KHCO₃ tömege *A* g és fogyott *B* cm³ 0,1 M HCl, akkor a 0,1 M HCl pontos koncentrációja metilnarancsra:

$$\frac{1000 \cdot A}{100,19 \cdot B}.$$

Hibahatár: ±0,2%. A koncentrációt háromtizedes pontossággal adjuk meg.

Hasonló módon állapítjuk meg a 0,1 M HCl pontos koncentrációját fenolftalein-indikátorra is. Ez esetben a CO₂ kifőzését a végpont végleges megállapítása előtt többször meg kell ismételni, vagy a titrálást forralás közben kell befejezni. Azonos méréseket feltételezve, a két indikátor közötti fogyáskülönbség 0,15 cm³-nél nem szokott nagyobb lenni.

A 0,1 M HCl beállítása vízmentes Na₂CO₃-ra az 1 M HCl beállításához hasonlóan történhet. A Na₂CO₃ higroszkóposágából, valamint a kisebb bemérésből származó hiba itt természetesen nagyobb hibáknak lehet okozója. Egy titráláshoz ugyanis kb. 0,1 g Na₂CO₃-ot kell bemérni, tehát 0,1 mg tömegmérési hiba a titrálás eredményében 0,1% hibát okoz. Célszerűbb tehát nagyobb beméréssel törzsoldatot készíteni és ennek egyenlő részleteit titrálni. A titrálás folyamán keletkező szénsva a végpont elérése előtt forralással el kell távolítani.

2.2.4.3. 1 M NaOH készítése és beállítása

A gyakorlatban a NaOH-mérőoldat kevés Na₂CO₃-tartalma, különösen gyenge savak titrálása alkalmával, nagy hibát és bizonytalan átmenetet okozhat, ezért

igyekeznünk kell lehetőleg karbonátszegény, illetve gyakorlatilag karbonátmentes NaOH-mérőoldatot előállítani.

Karbonátszegény 1 M NaOH. Szilárd NaOH-ból táramérlegben lemérünk 45–50 g-ot, kevés vízzel gyorsan leöblítjük a felületére tapadt Na_2CO_3 -ot, majd gyorsan 1000 cm³-es mérőlombikba vesszük, amibe előzetesen 600 cm³ kiforralt és lehűtött desztillált vizet tettünk. Teljes feloldódás és a hőmérséklet kiegyenlítődése után a lombikot jelleg töltjük kiforralt és lehűtött desztillált vízzel.

Az *oldat koncentrációját* ismert koncentrációjú 1 M HCl-val állapíthatjuk meg leggyorsabban. A kapott, közelítőleg mólos lúgból pontosan 20 cm³-t titrálólombikba pipettázunk, egy csepp metilnarancsot vagy dimetilsárgát adunk hozzá, és 1 M HCl-val átmeneti színig titráljuk. Ha e célra A cm³ 1 M HCl fogy, akkor az oldat koncentrációja:

$$\frac{A}{20,0}.$$

A fenti módszerrel előállított lúg nem teljesen karbonátmentes. Az oldat csekély karbonáttartalma azonban a metilnarancs, illetve dimetilsárga átcsapására nincs befolyással. Az oldat Na_2CO_3 -tartalma tehát úgy viselkedik, mintha NaOH lenne. Ha azonban a titrálást fenolftalein indikátor jelenlétében végezzük, a szénsavtartalom észrevehetővé válik. Fenolftaleinnel végzett titrálásoknál tehát a fenolftaleinre megállapított koncentrációval kell számolnunk. Ha a fenolftalein jelenlétében végzett titrálást az oldat forralása közben fejezzük be, akkor a szénsav az oldatból eltávozik, és így azzal a koncentrációval kell számolnunk, amit a metilnarancsra vagy dimetilsárgára állapítottunk meg.

Ha a titrálást fordítva végezzük, vagyis bemért mennyiségű savat titrálunk NaOH-dal, akkor az állandó savfölség folytán az oldatból a szénsav eltávozik, és így metilnarancs és fenolftalein használata esetén ugyanazt a fogyást kapjuk.

2.2.4.4. 0,1 M NaOH készítése és beállítása

Karbonátszegény 0,1 M NaOH-ot úgy állítunk elő, hogy 100 cm³ karbonátszegény 1 M NaOH-ot kiforralt és lehűtött desztillált vízzel 1000 cm³-re hígítunk. Ha 1 M NaOH nem áll rendelkezésre, akkor 5 g szilárd NaOH-ot – a felületére tapadt Na_2CO_3 leöblítése után – kiforralt és lehűtött desztillált vízzel 1000 cm³-re oldunk.

0,1 M NaOH beállítása 0,1 M HCl-ra. Pontosán 20 cm³ 0,1 M NaOH-ot metilnarancs- vagy dimetilsárga indikátort használva 0,1 M HCl-val átmeneti színűre titrálunk. A kapott fogyásból kiszámított koncentráció a 0,1 M NaOH metilnarancsra, illetve dimetilsárgára megállapított koncentrációja.

0,1 M NaOH beállítása kristályos oxálsavra. A kristályos oxálsav $[(\text{COOH})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}]$ jól definiált összetételű, nem higroszkópos és jól mérhető. Hátránya, hogy kristályvizet tartalmaz, de ezt közönséges hőmérsékleten, szabad levegőn nem veszti el. Exszikkátorban elmállik ugyan, de kristályvizét már közönséges levegőn visszanyeri.

A koncentráció megállapítása fenolftaleinre. Mivel az oxálsav gyenge sav, közvetlenül csak fenolftaleinre titrálható meg. Kb. 20 cm³ fogyásnak megfelelő mennyiségű oxálsavat (0,12 g) analitikai mérlegen lemérünk, 20 cm³ szénsavmentes desztillált vízben oldjuk, és fenolftalein alkalmazása mellett 0,1 M NaOH-dal megtitráljuk. A bemért oxálsavból (A g) és a fogyott mérőoldat cm³-eiből (B cm³) kiszámítjuk a lúg koncentrációját:

$$\text{Hibahatár: } \pm 0,2 \, \%. \quad \frac{1000 \cdot A}{63,034 \cdot B}.$$

2.2.4.5. 0,5 M alkoholos KOH készítése

Zsírok, olajok, viaszok, gyanták savszámának, elszappanosítási számának, valamint észterszámának meghatározására alkoholos KOH mérőoldatot használunk. Oldószernek általában etil-alkoholt alkalmazunk, azonban nehezebben szappanosodó zsíroknál célszerűbb a magasabb forráspontú propil-alkoholt használni. Az oldat készítése során 35 g szilárd KOH-ot 30 cm³ vízben oldunk, és a teljes lehűlés után 1 dm³ 96%-os alkoholba öntjük. Alapos elkeverés után néhány napig állni hagyjuk. A kivált K₂CO₃-ról leöntjük és sötét helyen tartjuk. A kapott kb. 0,5 M lúg karbonátmentes, mert a K₂CO₃ alkoholban nem oldódik. Az ily módon előállított lúg lassanként megsárgul, majd megbarnul, szerves savak sói keletkeznek benne, és hatóértéke csökken. Alkalmazása esetén mindenkor vakpróbát is kell vele végezni.

A 0,5 M alkoholos KOH-ot ismert koncentrációjú 0,5 M HCl-ra állítjuk be fenolftalein indikátor jelenlétében. Célszerű a beállítást a meghatározással egyidejűleg végezni, miközben a beállítandó lúggal ugyanazokat a műveleteket végezzük el, mint magával a meghatározandó oldattal.

2.2.5. Erős savak titrálása

Erős savak titrálásánál az indikátort a titrálandó oldat koncentrációjának megfelelően kell megválasztani. Így 1 M erős sav titrálásánál minden olyan indikátor használható, aminek indikátorexponense pH = 3–11 közé esik. 0,1 M oldatok esetében e határok 4–10 pH-értékre, 0,01 M oldatoknál pedig 5–9 pH-tartományra korlátozódnak. 1 M oldatok esetében tehát a dimetilsárgától a timolftaleinig minden indikátor használható. A szénsav zavaró hatása miatt azonban célszerűbb olyan indikátorokat választani, melyek savakra kevésbé érzékenyek ($pK_i \leq 4$; metilnarancs, dimetilsárga). Ezeknek az indikátoroknak a használatánál a titrálási hiba elhanyagolható.

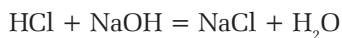
0,1 M oldatokban ugyancsak használható minden indikátor, aminek átcsapási pontja a dimetilsárga és timolftalein közé esik, azonban a pH = 4 és pH = 10 körül átcsapó indikátorok titrálási hibája már számottevő. Azoknál az indikátoroknál, amelyeknek átcsapási pontja a metilvörös és a fenolftalein közé esik, a

titrálási hiba elhanyagolható. Ezeket az indikátorokat azonban a szénsav zavarja, tehát gyakorlatilag karbonátmentes lúgot kell a titrálásnál használni, és a végpont elérése előtt célszerű az esetleg jelen levő szénsavat kiforralni.

0,01 M oldatokban csak olyan indikátorok használhatók, melyeknek átcsapása a metilvörös és fenolftalein átcsapási pontja közé esik. Ezen oldatokban a $\text{pH} = 5$ és $\text{pH} = 9$ körül átcsapó indikátorok titrálási hibája nagyobb a büretta leolvasási hibájánál. A metilvörös vagy fenolftalein jelenlétében végzett titrálásoknál tehát ezekre az indikátorokra megállapított koncentrációval kell számolnunk, vagy külön kísérletben meg kell állapítanunk az indikátorhibát. A semleges pont körül átcsapó indikátorok hibája elhanyagolható. A 0,01 M méretben végzett titrálásoknál gyakorlatilag szénsavmentes lúgot kell használnunk, és a végpont elérése előtt célszerű a szénsavat kiforralni.

2.2.5.1. Sósavoldat HCl-tartalmának meghatározása

A sósav egybázisú, erős sav. Relatív molekulatömege: 36,465 g. 1 cm^3 1 M NaOH 36,465 mg HCl-val egyenértékű.

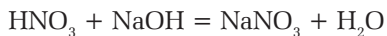


Ismeretlen töménységű sósav körülbelüli HCl-tartalmát sűrűségméréssel állapítjuk meg. Analitikai mérlegen, becsiszolt dugós mérőedénykében annyit mérünk le belőle, hogy vízzel veszteség nélkül mérőlombikba öblítve és ismert térfogatra hígítva, HCl-ra kb. 1 M legyen. Ezen oldat $20,0 \text{ cm}^3$ -es részleteit metilnarancs indikátor jelenlétében 1 M NaOH-dal megtitráljuk. 1 M-nál hígabb HCl-at térfogatra is bemérhetünk.

Hibahatár: $\pm 0,2\%$.

2.2.5.2. Salétromsavoldat HNO_3 -tartalmának meghatározása

A salétromsav egybázisú erős sav. Molekulatömege 63,016 g. 1 cm^3 1 M NaOH 63,016 mg HNO_3 -at mér.



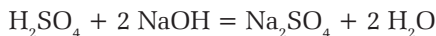
A salétromsav meghatározását mindenben a sósavéhoz hasonlóan végezzük. Tekintettel arra, hogy a tömény salétromsav összetétele pipettázás folytán nem változik, a bemérést méregpipettával is végezhetjük.

A pipettából kb. 1 g savat 100 cm^3 -es mérőlombikba engedünk, a lombikot pontosan jelig töltjük, összerázzuk, majd a törzsoldat $20,0 \text{ cm}^3$ -es részleteit metilnarancs hozzáadása után 0,1 M NaOH-dal megtitráljuk. A számítást a metilnarancsra beállított koncentrációval végezzük.

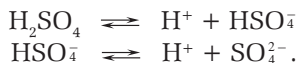
Hibahatár: $\pm 0,2\%$.

2.2.5.3. Kénsavoldat H_2SO_4 -tartalmának meghatározása

A kénsav kétértékű erős sav. Molekulatömege: 98,08 g. 1 cm^3 1 M NaOH 49,040 mg H_2SO_4 -at mér.



Az 1 M H_2SO_4 -nak metilnarancsra való titrálása alkalmával az indikátor átcsapása éles, ha azonban a titrálást 0,1 M oldatban végezzük, már nem kapunk olyan jó színátcsapást. Ennek az az oka, hogy a H_2SO_4 , mint kétértékű sav, fokozatosan disszociál:



Az első disszociáció gyakorlatilag teljes, a második azonban lényegesen kisebb ($K_2 = 3 \cdot 10^{-2}$). 0,1 M koncentrációban tehát a titrálást célszerűbb metilvörös indikátor jelenlétében végezni. Ez esetben az indikátor színátcsapása éles. Metilvörös alkalmazása esetén karbonátmentes lúggal kell dolgoznunk. Ha ilyen nem áll rendelkezésünkre, a végpont elérése előtt az oldatot fel kell forralnunk, hogy a szénsav eltávozzék, majd a teljes lehűlés után a titrálást befejezzük.

Kb. 1 g vizsgálandó (tömény) kénsavat ismert tömegű (becsiszolt dugós) mérőedénykébe mérünk, és desztillált vízzel széles szájú titráló lombikba mossuk. Kb. 50 cm^3 -re hígítjuk, két csepp metilnarancs indikátort adunk hozzá, és 0,1 M NaOH-oldattal titráljuk.

1 cm^3 0,1 M NaOH-oldat megfelel 4,9040 mg H_2SO_4 -nak.

2.2.5.4. Peroxi-diszulfátok meghatározása

Ha a kálium-, nátrium- vagy bárium-peroxi-diszulfát vizes oldatát hosszabb ideig főzzük, a só a következő egyenlet szerint bomlik:



Semleges szulfát és szabad kénsav keletkezik, miközben az oldatból oxigén távozik el. A keletkezett kénsavat 0,1 M NaOH mérőoldattal megtitrálhatjuk.

Meghatározás: A meghatározandó peroxi-diszulfátból analitikai mérlegen lemérünk kb. 0,25 g-ot. Nagyobb Erlenmeyer-lombikban, kb. 200 cm^3 vízben oldjuk, ha szükséges, metilvörös jelenlétében hidegen semlegesítjük, majd felmelegítjük és 20–25 percig forrásban tartjuk. Lehűlés után metilvörös indikátort adunk hozzá, és a keletkezett kénsavat 0,1 M NaOH-dal megtitráljuk.

1 cm^3 0,1 M NaOH-megfelel 13,515 mg $K_2S_2O_8$ -nak, 11,906 mg $Na_2S_2O_8$ -nak, illetve 16,474 mg BaS_2O_8 -nak.

2.2.6. Gyenge savak titrálása

Gyenge savak pontos közömbösítése alkalmával az oldat a keletkezett só hidrolízise révén többé-kevésbé lúgos kémhatású. Az ekvivalenciapont pH-ját a következő egyenlet adja:

$$\text{pH} = 7 + 1/2 \text{pK}_s + 1/2 \log c.$$

A titráláskor tehát olyan indikátort kell alkalmaznunk, aminek átcsapási pontja az ekvivalenciapont közelébe esik. Az indikátorátcsapás élessége függ az ekvivalenciapont környezetében beálló pH-ugrástól. Az ekvivalenciapont környezetében mutatózó pH-ugrás annál kisebb, minél kisebb a sav disszociációs állandója és koncentrációja. Ha a sav disszociációs állandója $K_{\text{sav}} = 10^{-9}$ -nél kisebb, még koncentrált oldatban sem kapunk éles átmenetet. Ennél gyengébb savak tehát nem titrálhatók.

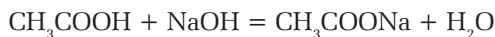
A *több-bázisú savak* semleges sóig való titrálásánál az ekvivalenciapontot a legkisebb disszociációs állandóból az egyértékű savakhoz hasonlóan számítjuk ki. A több-bázisú savakban savanyú só képződéséig való titrálásnál csak akkor várhatunk éles átmenetet, ha a megfelelő disszociációs állandók hányadosa legalább 10 000. Az ekvivalenciapont pH-ját a következő egyenlethől számítjuk ki:

$$\text{pH} = 1/2 (\text{pK}_1 + \text{pK}_2).$$

Két különböző erősségű sav is megtitrálható egymás mellett, ha disszociációs állandójuk viszonya 10 000-nél nagyobb.

2.2.6.1. Ecetsavoldat CH_3COOH -tartalmának meghatározása

Az ecetsav disszociációs állandója $K_s = 1,86 \cdot 10^{-5}$, tehát még 0,01 M oldatban is jól titrálható fenolftalein jelenlétében. Molekulatömege 60,052 g. 1 cm³ 1 M NaOH 60,052 mg CH_3COOH -at mér.

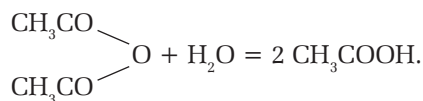


A jégecet CH_3COOH -tartalmát a következőképpen határozzuk meg: Jól záró üvegdugós mérőedénykében lemérünk 3 g jégecet, majd a mérőedénykében annyi kiforralt és lehűtött vízzel hígítjuk, amennyivel csak lehetséges. Veszteség nélkül 500 cm³-es mérőlombikba öblítjük, és szénsavmentes desztillált vízzel jelig töltjük. Ezen oldat 20,0 cm³-es részleteit 0,1 M karbonátmentes lúggal titráljuk, fenolftalein indikátor jelenlétében.

Hibahatár: $\pm 0,2\%$.

2.2.6.2. *Ecetsavanhidrid meghatározása*

Az ecetsavanhidrid vízzel nehezen elegyedő folyadék, ami azonban vízzel öszszezhezva hőfejlődés közben lassanként feloldódik, miközben ecetsavvá alakul:



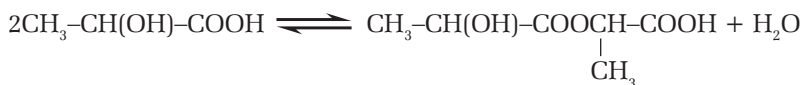
A hidrolízis befejeztével a keletkezett ecetsavat karbonátmentes lúggal, fenolftalein jelenlétében megcitráljuk. Az ecetsavanhidrid oldódását melegítéssel gyorsíthatjuk, azonban ilyenkor a lombikra visszafolyó hűtőt kell szerelnünk, hogy a bomlatlan anhidrid elillanását megakadályozzuk.

Meghatározás: Kis átmérőjű üveg dugós edénykébe bemérünk 1,0 g ecetsavanhidridet, és az edénykét dugóval együtt széles szájú lombikban levő 25 cm³ vízbe dobjuk. Gyakori rázogatós közben néhány óráig állni hagyjuk, míg az anhidrid teljesen feloldódik. Az oldatot két csepp fenolftalein indikátor hozzáadásá után karbonátmentes 1 M NaOH-dal megcitráljuk. Az ecetsavanhidrid molekula-tömege: 102,1 g. 1 cm³ 1 M NaOH tehát 51,05 mg ecetsavanhidridet mér.

2.2.6.3. *Tejsav titrálása*

A közönséges vagy erjedési tejsav (etilidéntej sav) egybázisú, az ecetsavnál valamivel erősebb sav ($K_{\text{sav}} = 1,5 \cdot 10^{-4}$). Molekulatömege: 90,08 g. 1 cm³ 1 M nátriumhidroxid 90,08 mg tejsavat mér.

A gyógyszerkönyvi készítmény etilidéntej savon kívül még dilaktilsavat (anhidrotejsav) is tartalmaz. A koncentrált tejsavoldatban ugyanis a tejsav egy része észterszerű anhidriddé alakul, ami azonban még tartalmaz szabad karboxilcsoportot, és így sav gyanánt viselkedik.



A gyógyszerkönyvi tejsav 55–63% tejsavon kívül 30% dilaktilsavat tartalmaz. Ha a készítményt közönséges hőmérsékleten lúggal titráljuk, akkor nemcsak a tejsavat, hanem a dilaktilsavat is megcitráljuk. A lúgfogyásból számított tejsavtartalom kb. 75%-nak felel meg. Ha a megcitrált oldathoz fölös lúgot adunk és vízfürdőn melegítjük, a dilaktilsav észterszerű kötése felbomlik, és a felszabaduló karboxilcsoport újabb lúgot köt meg.



A fölös lúgot sósavval visszatitráljuk. Ebből a lúgfogyásból számítható ki a tejsavanhidrid-tartalom, az előbbi és mostani lúgfogyás különbségéből pedig a tejsavtartalom. A szénsav hatásának kiküszöbölésére célszerű az utóbbi titrálást úgy végezni, hogy a lúgos folyadékhoz fölös savat adunk, a szénsavat kifőzzük, és a savanyú oldatot lúg mérőoldattal visszatitráljuk. A titráláshoz karbonátmentes lúgot kell használni, melynek koncentrációját ugyanolyan körülmények között kell meghatároznunk, mint ahogy a titrálást végeztük. Indikátornak fenolftaleint használunk.

Meghatározás: Táramérlegben 100 cm³-es mérőlombikba mérünk 10,0 g tejsavat és vízzel jelig töltjük. Alapos összerázás után az oldat 20,0 cm³-ét jó minőségű üvegből készült lombikba pipettázzuk, és 2 csepp fenolftalein indikátor hozzáadása után karbonátmentes 1 M NaOH-dal megtitráljuk. E célra fogy A cm³ 1 M NaOH.

A semlegesített folyadékhoz további 10,0 cm³ 1 M NaOH-ot adunk, és vízfürdőn 1 óra hosszat melegítjük. Ezután az oldathoz 10,0 cm³ 1 M HCl-at adunk, a szénsavat kiforraljuk, és két csepp fenolftalein hozzáadása után a sósavfölösleget 1 M karbonátmentes lúggal visszatitráljuk. E célra fogy B cm³ 1 M NaOH.

Mivel 1 cm³ NaOH 90,08 mg tejsavat és 162,0 mg anhidrotejsavat mér, a második titrálás alapján a dilaktilsav-tartalom $B \cdot 162,0$ mg a lemerített 2 g tejsavban. Az első és a második titrálás különbsége adja a tiszta tejsavra fogyott lúg cm³-eit. Eszerint 2 g tejsavban van $(A - B) \cdot 90,08$ mg tiszta tejsav.

2.2.6.4. Borkósav és borkő titrálása

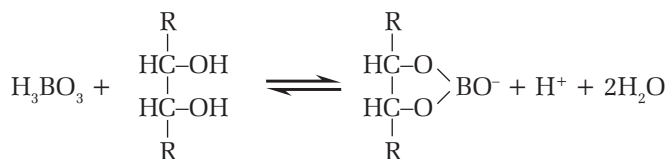
A borkósav kétbázisú gyenge sav. A disszociációs állandók: $K_1 = 9,7 \cdot 10^{-4}$ és $K_2 = 9 \cdot 10^{-5}$. A két disszociációs állandó viszonya nem éri el a 10 000-t, tehát a titrálás csak normális só képződéséig végezhető el. Az ekvivalenciapont pH-ja akkora, mint egy $K_{sav} = 9 \cdot 10^{-5}$ egyensúlyi állandójú gyenge savé. A titrálást tehát fenolftalein indikátor jelenlétében kell végezni. A molekulatömeg: 150,08 g. 1 cm³ 1 M NaOH tehát 75,04 mg borkósavat mér.

Meghatározás: kb. 1,5 g borkósavat pontosan lemerünk, 40 cm³ szénsavmentes desztillált vízben oldjuk, 2 csepp fenolftalein indikátort adunk hozzá és 1 M karbonátmentes NaOH-dal megtitráljuk.

Hibahatár: $\pm 0,2\%$.

2.2.6.5. Bórsav és alkálilborátok H_3BO_3 -tartalmának meghatározása

A bórsav önmagában olyan gyenge sav ($K_1 = 6 \cdot 10^{-10}$), hogy vizes oldatában a metilnarancs nem pirosodik meg. Többértékű alkoholokkal azonban lényegesen erősebb komplex savakat alkot. Ha tehát bórsav oldatához glicerint, mannitot vagy invertcukrot (glükóz + fruktóz) adunk, belső-komplex képződése folytán közepes erősségű, egybázisú savvá alakul, és fenolftalein jelenlétében lúggal titrálható.

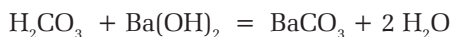


Meghatározás: 20 cm³ kb. 0,1 M bórsavhoz 6–8 cm³ invertcukor-oldatot adunk, és fenolftaleint adva hozzá, karbonátmentes 0,1 M NaOH-dal gyenge rózsaszínűre titráljuk. Ha az oldat újabb 10 cm³ invertcukor hatására elszíntelenedik, ismételten átmeneti színűre titráljuk. A végpont helyességét invertcukorral újból ellenőrizzük. Molekulatömeg: 61,84 g. 1 cm³ 0,1 M NaOH tehát 6,184 mg H₃BO₃-at mér. Hibahatár: ±0,3%.

A fenti módszer alkalmazásával a bórsavat más erős sav mellett úgy titráljuk meg, hogy metilnarancs vagy metilvörös indikátor jelenlétében megtitráljuk az erős savat, majd az oldathoz mannitot vagy invertcukrot adunk, és fenolftalein jelenlétében megtitráljuk a bórsavat.

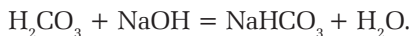
2.2.6.6. Szénsavoldat CO₂-tartalmának meghatározása

A szénsav (H₂CO₃) kétbázisú gyenge sav. Disszociációs állandói: K₁ = 3 · 10⁻⁷ és K₂ = 6 · 10⁻¹¹. Második disszociációs állandója tehát annyira kicsi, hogy mint kétbázisú sav, NaOH-dal nem titrálható meg. Ha azonban gondoskodunk róla, hogy a titrálás folyamán keletkező karbonátionok az oldatból csapadékképződés útján eltávozzanak, akkor a titrálás fenolftalein indikátor alkalmazásával elvégezhető. Így Ba(OH)₂ mérőoldat alkalmazása esetén a titrálás simán elvégezhető, mert a keletkező BaCO₃ csapadék alakjában kiválik az oldatból.



1 cm³ pontos 0,1 M Ba(OH)₂-oldat 2,2 mg CO₂-ot mér.

A szénsav első és második disszociációs állandójának viszonya: K₁:K₂ = 0,5 · 10⁴, tehát bikarbonátképződésig való titrálása csak összehasonlító oldat alkalmazása esetén végezhető el pontosan, mivel az egyenértékponthoz bekövetkező pH-változás nem eléggé ugrásszerű. A reakció egyenlete:



Az ekvivalenciapont pH-ját a következő összefüggésből számítjuk ki:

$$\text{pH} = 1/2 (\text{pK}_1 + \text{pK}_2) = 1/2 (6,25 + 10,22) = 8,4.$$

Ez az érték a fenolftalein átcsapási tartományába esik. A fenolftalein rózsaszíne azonban az előírt koncentrációjú indikátor alkalmazása esetén, már 7,7 pH-értéknél megjelenik. Ha tehát a titrálást a szokásos koncentrációjú indikátorral a rózsaszín megjelenéséig végezzük, az oldatban még titrálatlan szénsav marad. Ennek mennyisége 7,7 pH-nál a szénsav mennyiségének 5%-át is elérheti.

A szénsav közömbösítése nem pillanatszerű reakció. A szénsav ugyanis a vízben jórészt CO_2 alakjában van jelen, és csak kis része hidrolizál H_2CO_3 -ra. Ez utóbbi a lúggal pillanatszerűen reagál, azonban a CO_2 -ból csak lassan képződik utána.



Ezért a H_2CO_3 valójában jóval erősebb sav, mint az az előbbi disszociációs állandóból adódna. Ha ugyanis a tömeghatás törvénye kifejezésében a valódi H_2CO_3 -koncentrációt helyettesítjük, úgy az első disszociációs állandó értéke a következő lesz:

$$K_{(d)} = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 1,3 \cdot 10^{-4}.$$

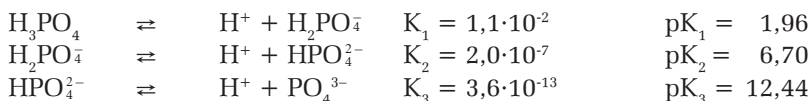
A gyorsan megtitrált oldat rózsaszíne tehát néhány perc múlva újból eltűnik. A titrálást csak akkor tekinthetjük befejezettnek, ha a fenolftalein rózsaszíne 5–10 percen belül nem tűnik el.

Meghatározás: Az üveg dugós palackban lévő 100,0 cm³ oldathoz 0,5 cm³ híg fenolftaleint (350 mg/dm³) adunk, és 0,1 M NaOH-dal éppen rózsaszínűre titráljuk. Ha az oldat öt percen belül elszíntelenedik, néhány csepp 0,1 M NaOH-dal állandó rózsaszínűre titráljuk. Mivel az oldat rázogatósa alkalmával szénsav-veszteség állhat elő, a titrálást célszerű úgy megismételni, hogy az első titrálásnál fogyott lúgmennyiséget egyszerre adjuk az oldathoz, és ha az oldat szintelen marad, állandó rózsaszínűre titráljuk. (Töményebb fenolftalein alkalmazása esetén összehasonlító oldatot használunk). 1 cm³ 0,1 M NaOH megfelel 4,4 mg CO_2 -nak.

Hibahatár: $\pm 1\%$.

2.2.6.7. Foszforsav és alkálfoszfátok meghatározása

A foszforsav disszociációja három fokozatban megy végbe:



A foszforsav tehát mint egybázisú sav elég erős, mint kétbázisú sav gyenge, és mint hárombázisú sav igen gyenge. A foszforsav mint egybázisú sav és mint kétbázisú sav is megtitrálható acidimetrián. Harmadik disszociációs állandója

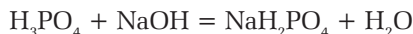
azonban annyira kicsi, hogy normális só képződéséig nem titrálható meg közvetlenül. Ennek megfelelően a foszforsav titrálási görbéjén az 1. és 2. folyamatnak megfelelően két határozott ugrást észlelünk a pH = 4,4, illetve 9,6 értékeknél. A harmadik folyamatnak megfelelő pH-ugrás oly kismértékű, hogy alig észrevehető.

A foszforsav mint egybázisú sav. Az ekvivalenciapont a pK_1 és pK_2 értékeiből a következőképpen számítható ki:

$$pH = 1/2 (pK_1 + pK_2) = 1/2 (1,96 + 6,7) = 4,4.$$

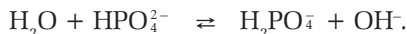
Ez az érték a metilnarancs és a dimetilsárga átcsapási tartományába esik. Az indikátor átcsapása azonban az oldat gyenge pufferhatása folytán nem elég éles, úgyhogy a titrálásnál könnyen 1–2% hibát követhetünk el. Összehasonlító oldat használata esetén a hibát 0,5%-nál kisebbre csökkenthetjük.

Meghatározás: Csiszolt dugós mérőedénykében lemérünk 1,0 g tömény foszforsavat. Veszteség nélkül 100 cm³-es mérőlombikba öblítjük, és kiforralt és lehűtött desztillált vízzel jelíg töltjük. Az oldat 20,0 cm³-es részletéhez 2 csepp metilnarancs indikátort adunk, és karbonátmentes 0,1 M NaOH-dal addig titráljuk, míg az oldat színe megegyezik egy azonos indikátormennyiséggel megfestett 0,05 mólos KH₂PO₄ összehasonlító oldat színével (6,8 g KH₂PO₄/1000 cm³).

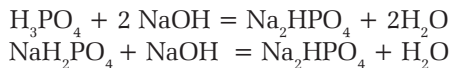


A foszforsav molekulatömege: 98,00 g. 1 cm³ 0,1 M NaOH 9,8 mg H₃PO₄-at mér. Hibahatár: ±0,5%.

A foszforsav mint kétbázisú sav. Az ekvivalenciapont pH-ja 9,6. Az oldatot tehát az ekvivalenciapontban a *fenolftalein* erősen vörösre színezi. Ha a titrálást a fenolftalein gyenge rózsaszínének megjelenéséig végezzük, a foszforsavnak kb. 7%-a titrálatlanul marad. Némileg kedvezőbbek a viszonyok, ha az oldatot a végpont elérése előtt NaCl-dal félig telítjük. Ez ugyanis a Na₂HPO₄ hidrolízisét visszaszorítja, és így a titrálás fenolftalein jelenlétében kb. 1% pontossággal elvégezhető. A NaCl ugyanis ionjai hidrátkörének kialakítására sok vizet köt meg, és így ennek aktivitását csökkenti, ami a hidrolízis visszaszorulását eredményezi:



Meghatározás: A foszforsav vagy primér foszfát oldatához fenolftalein indikátort adunk, és annyi szilárd NaCl-ot oldunk fel benne, hogy az ekvivalenciapont közelében az oldat NaCl-ra félig telített legyen (100 cm³ végtérfogatra 18 g NaCl). Karbonátmentes 0,1 M NaOH-dal gyenge rózsaszínig titráljuk.



1 cm³ 0,1 M NaOH megfelel 4,9 mg H₃PO₄-nak, 12,0 mg NaH₂PO₄-nak, illetve 13,61 mg KH₂PO₄-nak.

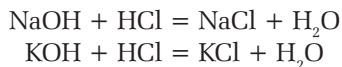
Hibahatár: ± 1%.

2.2.7. Erős és gyenge bázisok titrálása

Az erős savak és erős bázisok titrálási görbájének szimmetriájából következik, hogy az indikátor megválasztása szempontjából az *erős bázisok* titrálásánál is ugyanazok a szabályok érvényesek, mint az erős savaknál. 1 mólos lúgok titrálásánál tehát mindazok az indikátorok használhatók, melyeknek átcsapási pontja a dimetilsárga és a timolftalein átcsapási pontja ($pK_i = 3-11$) közé esik. 0,1 M lúgoknál mindazok az indikátorok használhatók, amelyek indikátorexponense $pH = 4$ és 10 közé esik. Dimetilsárga, metilnarancs és timolftalein alkalmazása esetén azonban az indikátorhiba már számottevő. Azoknál az indikátoroknál, melyek átcsapási pontja a metilvörös és a fenolftalein közé esik, az indikátorhiba elhanyagolható. 0,01 M lúgok titrálásánál csak azok az indikátorok használhatók, melyek átcsapási pontja $pH = 5$ és 9 közé esik.

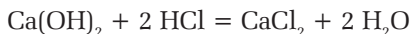
2.2.7.1. Kálilúg, nátronlúg és meszesvíz titrálása

A KOH és NaOH erős bázisok. Molekulatömegük: KOH = 56,104 g, NaOH = 40,005 g.



Meghatározás: A szilárd alkáliákból jól záró üvegdugós mérőedénykében lemérjük kb. a molekulatömeg 0,1 részének megfelelő mennyiséget. Kiforralt és lehűtött desztillált víz kis részletében gyorsan feloldjuk és veszteség nélkül 100 cm³-es mérőlombikba öblítjük, majd a lombikot a hőmérséklet teljes kiegyenlítődése után jelig töltjük. Az oldat 20,0 cm³-es részleteit, jelzőül metilnarancs indikátort használva, 1 M HCl-val megtitráljuk. Ily módon eljárva a lúg karbonáttartalmát is megtitráljuk. 1 cm³ HCl megfelel 56,10 mg KOH-nak, illetve 40,01 mg NaOH-nak. Hibahatár: ± 0,2%.

A meszesvíz a Ca(OH)₂ telített oldata. A Ca(OH)₂ látszólag közepes erősségű bázis, ezért fenolftalein jelenlétében célszerű titrálni. A tiszta meszesvíz karbonáttartalma elhanyagolható, mivel a CaCO₃ vízben oldhatatlan és így az oldatból leülepszik.



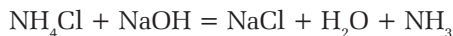
Meghatározás: 50,0 cm³ tiszta meszesvizet titráló lombikba pipetázunk, 2 csepp fenolftaleint adunk hozzá, majd 0,1 M HCl-val megtitráljuk. A telített meszesvíz közönséges hőmérsékleten 0,15–0,17% Ca(OH)₂-ot tartalmaz.

1 cm³ 0,1 M HCl megfelel 3,705 mg Ca(OH)₂-nak, illetve 2,804 mg CaO-nak. Hibahatár: ±0,2%.

2.2.7.2. Ammóniameghatározás

Az ammónia mint egyértékű bázis ($K = 1,75 \cdot 10^{-5}$) 0,1 M és 0,01 M oldatokban metilnarancs jelenlétében, 1 M oldatban pedig metilvörös jelenlétében sósavval titrálható. Illékonyága miatt beálló esetleges veszteségeket úgy kerülhetjük el, hogy a meghatározandó próbához fölös és ismert mennyiségű 0,1 M HCl-at adunk, és a savfölösleget metilvörös indikátor jelenlétében karbonátmentes 0,1 M NaOH-dal visszatitráljuk. Az összes 0,1 M HCl térfogatából levonva a visszszámérésre fogyott 0,1 M NaOH térfogatát, megkapjuk az ammónia közömbösítésére fogyott 0,1 M HCl-at. Molekulatömeg: NH₃ = 17,032 g, N = 14,008 g, NH₄OH = 35,048 g. 1 cm³ 0,1 M HCl megfelel 1,703 mg NH₃-nak, 1,401 mg N-nek, illetve 3,505 mg NH₄OH-nak.

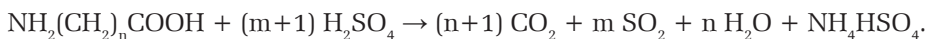
Az ammóniumsók NH₄⁺-tartalmának meghatározása. A szabad ammónia meghatározásánál gyakoribb eset az ammóniumsók ammóniatartalmának meghatározása. Ebben az esetben úgy járunk el, hogy erős lúg (NaOH, KOH) csekély feleslegével sóiból szabaddá tesszük az ammóniát, ismert mennyiségű, fölös savba desztilláljuk, és a savfölösleget visszatitráljuk.



Az ammónia ledesztillálására a *Kjeldahl-féle* nitrogénmeghatározásnál (lásd később) alkalmazott desztilláló berendezéseket használhatjuk. Az ammónia áthajtása után a palackban lévő savat karbonátmentes lúggal visszatitráljuk.

1 cm³ 0,1 M HCl 1,7032 mg NH₃-t; 5,3496 mg NH₄Cl-ot; 8,0048 mg NH₄NO₃-ot és 6,6070 mg (NH₄)₂SO₄-ot mér.

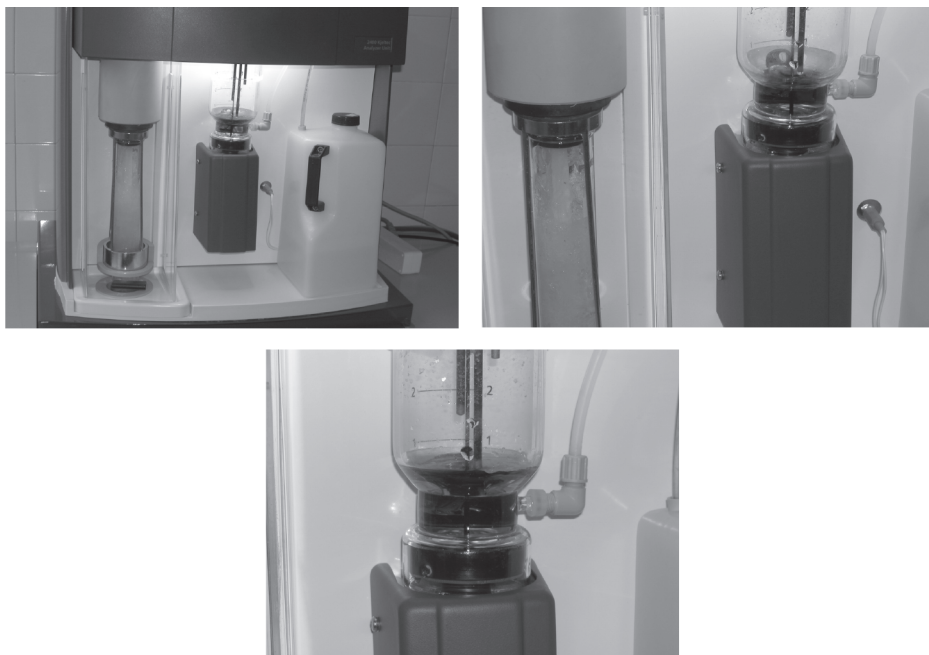
Kjeldahl módszere szerves vegyületek nitrogéntartalmának meghatározására. A módszer azon alapszik, hogy a szerves vegyületek tömény kénsavval való főzése (roncsolása) alkalmával a bennük megkötött nitrogén ammónia alakjában lehasad, illetőleg a kénsavból keletkező SO₂ hatására ammóniává redukálódik, és a kénsav fölöslegével nem illékony NH₄HSO₄-tá, illetve (NH₄)₂SO₄-tá alakul. A roncsolás befejezése után a keletkezett NH₄HSO₄-ból, illetve az (NH₄)₂SO₄-ból az ammóniát erős lúggal felszabadítjuk, majd ismert mennyiségű savba desztilláljuk át. A savfölösleget lúggal visszatitráljuk. Eközben a kénsav bomlásakor (H₂SO₄ → H₂O + SO₂ + O) keletkezett atomos oxigén a szén CO₂-dá oxidálja. Aminosavak esetén a reakció a következőképpen átalakítható:



Roncsolás: A tömény kénsavas roncsolást **katalizátorok** (CuSO_4 , Se, HgO) és **forráspontnövelő anyagok** (K_2SO_4) jelenlétében végezzük. Hosszú nyakú, 250–500 cm^3 -es Kjeldahl-lombikba visszaméréssel bemérünk 0,15–0,20 g fehérjét tartalmazó szerves anyagot. A lombik nyakára tapadt anyagot kb. 8 g finoman aprított K_2SO_4 -tal és 20 cm^3 (NH_3 -mentes) koncentrált H_2SO_4 -val a lombikba öblítjük. Ha a roncsolandó anyag 1 g-nál több szárazanyagot tartalmaz, úgy minden további 1 g szárazanyagra 5 cm^3 koncentrált H_2SO_4 -at adunk még hozzá. A roncsolás gyorsítására 1 g finoman elporított kristályos CuSO_4 -ot (vagy 0,05 g elporított Se-t vagy HgO -ot) és a forrás közben esetleg beálló felhabzás megakadályozására egy kis üvegyöngyöt adunk a lombikba. A lombikot fülkében ferdén állványba fogjuk, szájába kis tölcsért teszünk, majd kis lánggal melegíteni kezdjük. Miután az anyag habzása gyengül, a lángot erősítjük, de vigyázzunk arra, hogy a láng a lombik oldalát ne melegítse. A lángot úgy szabályozzuk, hogy a kénsav enyhén forrjon, és a kénsavgőzök a lombik nyakában, illetve a tölcséren kondenzáljanak. A lombik tartalma először szenesedés folytán rendszerint megsötétedik, majd kb. 1–2 óra múlva kitisztul és világossárga lesz. A lombik nyakára tapadt elszenesedett részeket lóbálással a kénsavba öblítjük. A kénsav forralását a folyadék kitisztulása után még 20 percig folytatjuk. Ha roncsolás közben a kénsav mennyisége túlságosan csökkenne, az elpárolgott mennyiséget pótoljuk.

Desztillálás: Az ammónia desztillálását az ábrán látható speciális eszközzel, az ún. Parnas-féle ammóniadesztilláló berendezéssel végezzük. A desztillátum felfogására egy 200 cm^3 -es Erlenmeyer-lombikot használunk, amibe 25,0 cm^3 0,1 M HCl-at pipetázunk. Az átdesztilláló ammóniát 0,1 M HCl helyett bórsavban is felfoghatjuk. A bórsav annyira gyenge sav, hogy metilnarancsra vagy metilvörösre hatástalan, az átdesztillált ammóniát tehát 0,1 M HCl-val közvetlenül megtitrálhatjuk. E módszernek az az előnye, hogy a meghatározáshoz egy mérőoldat is elegendő. Hogy a bórsav az ammóniát tökéletesen megkösse, nagy feleslegben kell alkalmaznunk. Szedőnek desztillált vizet használunk, melybe annyi bórsavat teszünk, amennyit a víz és a desztillátum fel tud oldani.

A savfölösleget metilvörös vagy metilvörös-metilénkék keverékindikátor jelenlétében karbonátmentes 0,1 M NaOH-dal visszatitráljuk, a bórsavban elnyeletett ammóniát pedig 0,1 M HCl-val határozzuk meg. A roncsolásnál, valamint a desztillálásnál alkalmazott kémszereknek ammóniamentesnek kell lenniük. Célszerű az alkalmazott kémszerekkel vakpróbát végezni, és az erre fogyott sósavmennyiséget korrekcióba venni. A 0,1 M HCl minden cm^3 -e 1,401 mg N-t mér. A $\text{N} \cdot 6,25$ szorzat a vizsgált anyag fehérjetartalmát adja. A 11. ábrán a Kjeltec 2400 automata nitrogénelemző ammóniadesztilláló egysége látható különböző nagyításban.



11. ábra. A Kjeltac nitrogénelemző ammóniadesztilláló része különböző nagyításban. Az ábrán a bal oldalon az ammónia vízgőz-desztillációja, a jobb oldalon pedig az átdestillált ammónia meghatározása látható

2.2.8. Nitrátmeghatározás

A nitrátok fejlődő hidrogén hatására ammóniává redukálódnak:



Ha a redukción savanyú közegben végezzük, az ammónia a sav fölöslegével ammóniumsóvá alakul. Az oldatból az ammónia erős lúggal felszabadítható. Lúgos közegben végzett redukció alkalmával a redukció és a desztilláció egyszerre végezhető.

Nitrátmeghatározás savanyú redukciónal. A nitráttartalmú anyagot kénsavas közegben vasporral ammóniává redukáljuk, és meglúgosítás után a keletkezett ammóniát ismert mennyiségű sósavba desztilláljuk. A kémszerek, különösképpen a vas nitrogéntartalma miatt vakpróbát is kell végeznünk. Ha a meghatározandó anyag jelentős mennyiségű nitritet tartalmaz, a redukción lúgos, illetve semleges közegben kell végeznünk, vagy pedig a nitritet KMnO_4 -tal előzetesen nitráttá kell oxidálni. E célból az 5 cm^3 1:2 arányban hígított H_2SO_4 -val megsava-

nyitott próbához fölös mennyiségben KMnO_4 -ot adunk és 40°C -ra melegítjük. A meghatározást az alábbiak szerint végezzük.

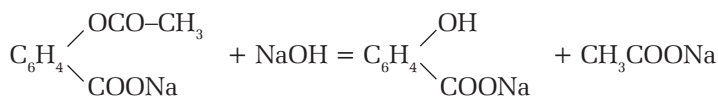
Meghatározás: Analitikai mérlegen lemérünk 1,2–1,5 g KNO_3 -ot vagy ennek megfelelő mennyiségű vizsgálandó anyagot, és mérőlombikban pontosan 100 cm^3 -re oldjuk. Az oldat $10,0\text{ cm}^3$ -es részletét 250 cm^3 -es Kjeldahl-lombikba pipettázzuk, hozzáadunk 3 g vasport, 10 cm^3 1:2 arányban hígított kénsavat és egy üveggyöngyöt. A függőlegesen állványba fogott lombik nyakába vízzel töltött és beforrasztott csövű tölcseért illesztünk. A lombik tartalmát kezdetben óvatosan melegítjük, majd kb. 5 perc múlva forrásba hozzuk. 30 perc múlva a redukció befejeződik. Ekkor a tölcseért és a lombik nyakát leöblítjük, és a lombik tartalmát $100\text{--}150\text{ cm}^3$ -re hígítjuk. A desztillációt és a titrálást a Kjeldahl-féle ammónia-meghatározásnál ismertetett módon végezzük.

Nitrátmeghatározás lúgos redukcióval. E módszerrel egy munkamenetben nemcsak a nitrátok, hanem a nitritek nitrogéntartalma is meghatározható. Ha a meghatározandó anyag ammóniumsókat is tartalmaz, akkor külön próbában lúgos desztillációval meghatározzuk az ammóniatartalmat, és az eredményt levonjuk a redukciós desztillációval kapott nitrogéntartalomtól.

Meghatározás: $250\text{--}500\text{ cm}^3$ -es Kjeldahl-lombikba visszaméréssel bemérünk $0,12\text{--}0,15\text{ g}$ KNO_3 -ot. 100 cm^3 vízben oldjuk, majd 2 g finoman elporított Dewarda-ötvezetet (50% Cu, 5% Zn, 45% Al) adunk hozzá. A lombikba egy üveggyöngyszemet adunk, és a lombikot desztillációs berendezéssel kötjük össze. Szedőnek 200 cm^3 -es Erlenmeyer-lombikot használunk, melybe $20,0\text{ cm}^3$ $0,1\text{ M}$ HCl-at pipettázunk. $50\text{--}60\text{ cm}^3$ kb. 2 M NaOH-ot csepegtetünk a lombikba, majd enyhe melegítéssel megindítjuk a redukciót. Ha a gázfejlődés túlságosan erős, a lángot kissé gyengítjük; kb. 1 óra múlva a redukció befejeződik. Ekkor a folyadék $1/3$ részét ledesztilláljuk. A szedőben levő savat metilvörös indikátor jelenlétében $0,1\text{ M}$ karbonátmentes NaOH-dal visszatitráljuk. Vakpróbával megállapítjuk az alkalmazott vegyszerek ammóniatartalmát, és a lúgfogyásnál korrekcióba vesszük. 1 cm^3 $0,1\text{ M}$ HCl $6,2008\text{ mg}$ nitrátot mér.

2.2.9. Acetilszalícilsav (aszpirin) meghatározása

Az acetilszalícilsav egyidejűleg sav is és észter is. A régebbi vagy nedvesen tárolt készítmény csekélyfokú bomlás folytán gyakran tartalmaz kevés szabad ecetsavat és szalicilsavat. Ha tehát az ilyen készítményt közvetlenül megtitráljuk lúggal, nem a valódi acetilszalícilsav-tartalmat kapjuk. Ha azonban a semlegesre titrált készítményt további lúgfölösleg mellett melegen elszappanosítjuk, úgy minden mól acetilszalícilsavra 1 mól lúg fogy:



2.3.2. Redoxindikátorok

Az oxidációs-redukációs titrálásoknál, mint minden térfogatós módszernél, fontos, hogy a titrálás végpontját pontosan meg tudjuk állapítani. Ezért alkalmazzák már régóta oxidimetriás mérőoldatnak a KMnO_4 -ot (permanganometria) és a KI -os I_2 -oldatot (jodometria), redukálószernek pedig a KI megsavanyított oldatát. A KMnO_4 legkisebb fölöslege ugyanis könnyen fölismerhető intenzív színéről, míg az elemi I_2 keményítőoldattal könnyen jelezhető. Más oxidáló és redukáló anyagokkal a meghatározást gyakran közvetett módon végezzük, vagyis a kémszert fölöslegben alkalmazzuk, és a fölösleget jodometriásan vagy permanganometriásan visszamérjük. Ismerünk azonban olyan redoxindikátorokat is, melyeknek színátcsapása határozott redoxpotenciálnál következik be, anélkül azonban, hogy valamelyik kémszerre specifikus lenne.

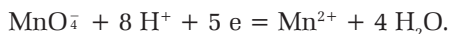
A KMnO_4 láthatósági határa: Ha valamilyen színtelen oldatot 0,1 M KMnO_4 -oldattal titrálunk, a mérőoldat fölöslegét akkor vesszük észre, ha 100 cm³ folyadékra számítva 0,02 cm³ 0,1 M KMnO_4 -tal titrálunk. Ez a mérőoldat-mennyiség még éppen a buretta leolvasási hibájával azonos nagyságrendű, és így elhanyagolható. Ha azonban a titrálást nagyobb térfogatban vagy hígabb mérőoldattal végezzük, az indikátorhibát meg kell állapítanunk. Ez úgy történik, hogy a megtitrált oldattal egyező térfogatú desztillált vízhez annyi KMnO_4 -mérőoldatot adunk, hogy színe a megtitrált oldat színével megegyezzek. E mérőoldat-mennyiséget a fogyásból levonjuk.

2.3.3. Permanganometria

A KMnO_4 erősen savanyú közegben erőlyesen oxidál, miközben mangán(II)-sóvá redukálódik. Az MnO_4^- -ion ugyanis öt elektront vesz fel, miközben a benne levő VII-vegyértékű mangán II-vegyértékűvé redukálódik. Mondhatjuk azt is, hogy a két molekulatömegnyi KMnO_4 öt oxigént fordít oxidációra:



Vagy ionegyenletben:



Redoxpotenciálja erősen kénsavas oldatban $\varepsilon^\circ = +1,52 \text{ V}$.

A reakció lényege tehát:

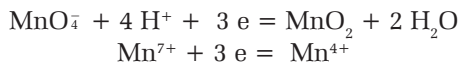


A reakcióegyenletekből látható, hogy a permanganát oxidáló hatása nagymértékben függ az oldat hidrogénion-koncentrációjától.

Gyengén savanyú vagy gyengén lúgos közegben a KMnO_4 csak három oxigént fordít oxidációra:



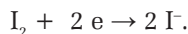
Ionegyenletben:



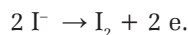
Ha azt akarjuk, hogy a reakció egyértelműen folyjék le, nagy savfölöslegről kell gondoskodnunk. A permanganáttal való titrálásnál külön indikátort nem kell használnunk, mert a mérőoldat csekély fölöslege is felismerhető az oldat gyenge ibolyaszínéről.

2.3.4. Jodometria

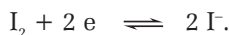
A jodometria sokoldalúsága egyrészt az elemi jód oxidáló hatásán, másrészt a jodidion redukáló képességén alapszik. Redukáló anyagok az elemi jódnak elektronokat adnak át, miközben jodidionok keletkeznek:



Erősen oxidáló anyagok semleges vagy savanyú közegben a jodidionoktól elektronokat vonnak el és elemi jódot tesznek szabaddá:



A jódnak jodidionná való átalakulása tehát megfordítható folyamat, és így a két egyenlet összevonható:



Hogy melyik irányba tolódik el a jodid–jód rendszer egyensúlya, attól függ, hogy milyen a reakcióban részt vevő anyagok redoxpotenciálja. A jodid–jód rendszer redoxpotenciálja (+0,62 V) körülbelül középre esik, és független az oldat hidrogénion-koncentrációjától. Az ennél nagyobb redoxpotenciálú anyagok tehát jodidion-tartalmú oldatból jódot tesznek szabaddá, a kisebb redoxpotenciálú anyagok pedig az elemi jódot színtelen jodidionná redukálják. Ha a reakció kvantitatív és elég gyors, a szabaddá tett jód mennyiségéből, illetve az anyag jódelfogyasztásából megállapítható ennek mennyisége.

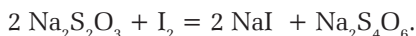
A jodometriás módszereket tehát két csoportba oszthatjuk:

Redukáló (a jód–jodid rendszernél kisebb redoxpotenciálú) **anyagokat** ismert titerű jódoldattal titrálunk (**jodimetria**). Az eredetileg barna színű jódoldat (mely a

jód oldatban tartására KI-ot is tartalmaz) a titrálás folyamán elszíntelenedik, és a reakció végpontját arról ismerhetjük fel, hogy a mérőoldat kis feleslegétől az oldat borsárga színű lesz. A végpont észlelését keményítőindikátorral érzékenyebbé tehetjük.

Oxidáló (a jód–jodid rendszerénél nagyobb redoxpotenciálú) **anyagokat** úgy határozhatunk meg, hogy KI-ot vagy NaI-ot adunk hozzá, amikor az oxidáló- anyaggal ekvivalens mennyiségű jód válik szabaddá. Ezt valamilyen alkalmas redukálószer pontosan beállított oldatával megtitráljuk (ez a **jodometria**). Az oldatban levő elemi jód meghatározására a nátrium-tioszulfát oldatát használjuk.

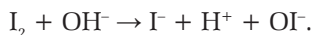
A **nátrium-tioszulfát** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) semleges vagy savanyú közegben a következő egyenlet szerint hat a jódra:



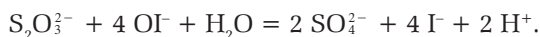
A jód tehát a tiokénsavat tetrationsavvá oxidálja. A jódnak az egyenlet szerinti redukciója csak semleges vagy gyengén savanyú közegben megy végbe kvantitatíve. Savas közegben a tioszulfácionon oxidáló anyagokra rendkívül érzékeny SH-csoport alakul ki, mely a I_2 -nak könnyen átadja hidrogénjét, és a keletkező szabad gyökök párosával egyesülnek tetrationsát-ionokká. A különben irreverzibilis folyamat standard redoxpotenciálja $\text{pH} = 2\text{--}10$ között:

$$\varepsilon^\circ = +0,25 \text{ V.}$$

Ha a titrálandó jóddoldat többé-kevésbé lúgos, úgy a jód egy része hipojodit alakjában van jelen az oldatban:



A hipojodit oxigénje azonban a tiokénsavat már nem tetrationsavvá, hanem kénsavvá oxidálja:



Lúgos közegben tehát a jód sokkal kevesebb $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -ot fogyaszt, mint semleges vagy savanyú közegben. Ha tehát jóddoldatot tioszulfáttal akarunk titrálni, ügyelnünk kell arra, hogy az oldat pH-ja bizonyos maximális értéknél ne legyen nagyobb. E maximális pH-értékek különböző koncentrációjú jóddoldatokban a következők:

0,1 M I_2 oldatban	pH max. = 7,6
0,01 M I_2 oldatban	pH max. = 6,5
0,001 M I_2 oldatban	pH max. = 5,0

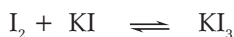
Ha azonban a titrálást fordítva végezzük, vagyis lúgos $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldatot titrálunk jóddoldattal, úgy a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldatban levő OH^- -ionok zavaró hatása nem

érvényesül, mivel a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{I}_2$ reakció sebessége nagyobb, mint a $\text{I}_2 + \text{OH}^-$ reakcióé.

Ha jodometriás titrálás után a tioszulfáttal megtitrált oldatot további analízisre akarjuk felhasználni, úgy tekintetbe kell venni, hogy az oldatban levő tetrationát bomlékony, és a bomlás termékei szintén fogyasztanak jódot. A titrálások végpontját a jóddoldat színének eltűnése jelzi. 0,1 M vagy ennél töményebb oldatban e szín eltűnése elég élesen észlelhető. Hígabb vagy színes oldatban célszerű keményítőt használni indikátorul.

2.3.4.1. Jodometriás indikátorok

A jodometriás titrálások végpontja felismerhető a jód színének első fellépéséről vagy eltűnéséről. A jodometriás titrálásokban szereplő jóddoldat elemi jód mellett KI-ot is tartalmaz, és így az oldatban mindig keletkezik komplex trijodidion (I_3^-), mely intenzív barna színű.



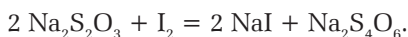
Ezért még az $5 \cdot 10^{-5}$ M KI-os I_2 -oldat is észrevehetően sárga, és így 0,05 M vagy ennél töményebb oldatokkal való dolgozás esetén a reakció végpontja külön indikátor nélkül is észlelhető. Ha azonban hígabb vagy színes oldatban titrálunk, úgy célszerű keményítőoldatot használni indikátorul. Az elemi jód ugyanis a keményítővel intenzív kék színeződést ad, ami még igen híg oldatban is észrevehető. Így még 10^{-5} M koncentrációban is felismerhető a jód. A jódkeményítő láthatósági határa tehát jóval nagyobb, mint az elemi jódé. A gyakorlat szempontjából rendkívül fontos, hogy a jódkeményítő reakció érzékenysége csak jodidionok jelenlétében és hideg oldatban nagy. Jodidmentes vagy meleg oldatban a keményítő nem használható indikátornak. Legmegfelelőbb, ha az oldat $4 \cdot 10^{-5}$ M jodidionokra nézve. Ennél kisebb koncentráció mellett az érzékenység lényegesen csökken, míg a jodidkoncentráció növelése az érzékenységre alig van befolyással. Erős savak (HCl , H_2SO_4) és semleges sók az érzékenységet növelik, míg a vízben oldható szerves vegyületek nagy része (alkohol, glicerin, cukor) az érzékenységet csökkenti. Már 20% metil- vagy etil-alkohol jelenlétében a KI-os jód saját színe élénkebb, mint a jódkeményítőé. A keményítőt csak a titrálás végén adjuk az oldathoz, akkor, amikor már a jód sárga színe alig észrevehető. Töményebb jóddoldat ugyanis a keményítőt kicsapja. A keményítőoldat hosszabb állás után a penészcsírák elszaporodása folytán tönkremegy, ezért a keményítőindikátort vagy frissen kell készíteni, vagy konzerválószerrel (szalicilsav) kell tartóssá tenni. Ha 100 cm³ vízhez 5 cm³ keményítőindikátort és egy kis csepp 0,1 M I_2 -oldatot adunk, az oldatnak tiszta kék színt kell mutatnia. Ha az oldat ibolyás vagy vöröses színárnyalatot mutat, a keményítőindikátor nem használható.

Keményítőoldat készítése: Ha a keményítőoldatra csak ritkábban van szükségünk, akkor minden titráláshoz frissen készítjük. A késhegynyi (0,02–0,04 g)

finoman elporított burgonyakeményítőt kémcsőben 3–5 cm³ vízzel alaposan összerázzuk, hogy tejszerű folyadék álljon elő. Másik kémcsőbe kétharmadát vizet teszünk és felforraljuk. A keményítőtejet gyors mozdulattal a forró vízhez öntjük, és az oldatot még egyszer felforraljuk. A keményítő eközben elcsirizedik és az oldat kitisztul. A lehűlt oldatból egy titráláshoz 1–2 cm³-t használunk.

2.3.4.2. 0,1 M Na₂S₂O₃ mérőoldat

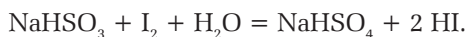
Vizes oldatban a Na₂S₂O₃ a következő egyenlet szerint reagál az elemi jódal:



Eszerint egy atomtömegnyi mennyiségű jód a nátrium-tioszulfát molekulatömegnyi mennyiségével reagál (Na₂S₂O₃ · 5 H₂O = 248,20 g). A kristályvíz-tartalmú nátrium-tioszulfát 20 °C-on 23–69% nedvesség mellett tömegét nem változtatja, és összetétele megfelel a sztöchiometrikusnak. Annak ellenére, hogy a kereskedelemben analitikai célokra forgalomba hozott nátrium-tioszulfát igen tiszta, illetve a szennyezett készítmény többszöri átkristályosítással könnyen megtisztítható, mégsem készíthető belőle egyszeri beméréssel pontos mérőoldat, mert a desztillált vízben levő szén-sav a Na₂S₂O₃-ból tiokénsavat tesz szabaddá, ami ismert módon kénessavra és elemi kénre bomlik.



Ezek szerint a tioszulfát hatóértékének növekednie kellene, mivel a tioszulfátból keletkező biszulfit molekulánként két jódot fogyaszt:



Különösen régebbi tioszulfátoldatoknál tapasztalhatjuk, hogy az oldat hatóértéke kénkiválás közben csökken. Ez arra vezethető vissza, hogy a levegő CO₂-ja által a fentiek szerint szabaddá tett szulfít a levegő oxigénjének hatására lassanként szulfáttá oxidálódik:



A tioszulfátoldatban kénbacilusok szaporodhatnak el, melyek a tioszulfát-nak szulfittá való bomlását és a szulfít oxidációját gyorsítják.

A koncentrációváltozás tehát részben kémiai, részben bakteriológiai eredetű. A kémiai eredetű bomlást lelassíthatjuk, ha megakadályozzuk az oldat gyors savanyodását. E célból kevés Na₂CO₃-ot adunk az oldathoz. A kénbaktériumok elszaporodását amil-alkohollal vagy izobutil-alkohollal lassítjuk. A koncentrációváltozás az első 8–14 napon jelentős, később a jól konzervált oldat hónapokon

keresztül tartja összetételét. A 0,01 M oldat eltarthatósága jóval kisebb, ezért nem készítünk nagyobb készletet belőle, hanem használat előtt a 0,1 M oldatból készítjük hígítással.

0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldat készítése. A fentiek figyelembevételével a tioszulfát bemérését nem érdemes analitikai mérlegen végezni. Mivel az oldat hatóértéke idővel csökken, valamivel többet mérünk be, mint a relatív molekulatömeg tizedrésze. Jó táramérlegen vagy kézimérlegen lemérünk 25 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -t, veszteség nélkül 1000 cm³-es mérőlombikba visszük, hozzáadunk kb. 0,2 g vízmentes Na_2CO_3 -ot, 10 cm³ izobutil-alkoholt (vagy amil-alkoholt), és forralással CO_2 -mentesített, majd gyorsan lehűtött desztillált vízzel jelig feltöltjük. Az oldat beállítását 2–3 napi állás után végezzük. Végleges hatóértékét 2 hét múlva állapítjuk meg. A kész oldatot krómkénsavval, vízzel és a mérőoldattal kiöblített üveg dugós üvegben, lehetőleg sötét helyen tartjuk. Ha az oldat az idők folyamán megromlott, amit a sok kén kiválásáról ismerünk fel, az oldatot kiöntjük, és az üveget krómkénsavval kitisztítjuk.

A 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat beállítása történhet szilárd jódra, kálium-bijodátra [$\text{KH}(\text{IO}_3)_2$], kálium-jodátra (KIO_3), kálium-bromátra (KBrO_3) vagy kálium-pirokromátra ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Beállítás szín-jódra: Kis átmérőjű, jól záró üveg dugós edénykébe bemérünk 0,25–0,30 g jódot. A le mérés után az edény fedelét csak pillanatokra megnyitva 2–3 g finoman porított, tiszta KI-ot és 0,5 cm³ vizet adunk hozzá. A koncentrált KI-oldatban a I_2 gyorsan feloldódik. Teljes feloldódás után 20 cm³ desztillált vizet adunk hozzá, majd az így kapott I_2 -oldatot a beállítandó 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal megtitraljuk. A titrálás végpontjának jelzésére keményítőindikátort használunk, amit közvetlenül a végpont előtt adunk az oldathoz. A 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldat pontos koncentrációját 3–4 titrálás középértékéből állapítjuk meg. Ha B g jódra A cm³ 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldat fogyott, akkor az oldat pontos koncentrációja:

$$\frac{B}{A \cdot 0,12692}.$$

Beállítás $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ -ra: A $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ savanyú közegben a KI-ból I_2 -ot tesz szabaddá:



A $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ egyenértéktömege a molekulatömeg 1/12-ed részével egyenlő:

$$1/12 \text{KH}(\text{IO}_3)_2 = 32,495 \text{ g}.$$

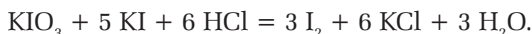
A $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ tisztán előállítható, kristályvizet nem tartalmaz, nem higroszkópos és 100 °C-nál nem magasabb hőmérsékleten 2 óra hosszat (vagy exsikkátorban 24 óra hosszat) szárítva, összetétele pontosan megfelel képletének. A nem megbízható készítményt célszerű forró vízből néhányszor átkristályosítani. A

$\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ -nak mint beállító anyagnak hátránya, hogy egyenértéktömege kicsi, és így a tömegmérés hibája erősen befolyásolja a koncentrációbeállítás pontosságát. E hibán úgy segíthetünk, hogy nagyobb beméréssel törzsoldatot készítünk belőle.

500 cm³ $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ beállítóoldat előállításához bemérünk analitikai mérlegen 1,6248 g szárított szilárd $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ -ot, veszteség nélkül 500 cm³-es mérőlombikba mossuk, majd teljes feloldódás után vízzel jelig töltjük. Alapos összerázás után az oldat 20,0 cm³-es részletét titrálólombikba pipetázzuk, 0,5–1,0 g KI-ot adunk hozzá, 10 cm³ 10%-os HCl-val megsavanyítjuk és 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal borsárga színig titráljuk. 2–3 cm³ keményítőoldat hozzáadása után éppen színtelenre titráljuk. A tioszulfát koncentrációját három mérés középértékéből határozzuk meg. Ha a titráláshoz A cm³ fogyott, akkor az oldat pontos koncentrációja:

$$\frac{2,00}{A}.$$

Beállítás KIO_3 -ra: A KIO_3 savanyú közegben KI-oldattal a $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ -hoz hasonlóan reagál, miközben egy molekulatömegnyi mennyisége három molekula jódot szabadít fel.



A KIO_3 egyenértéktömege a molekulatömeg hatodrésszével egyenlő:

$$1/6 \text{KIO}_3 = 35,669 \text{ g}.$$

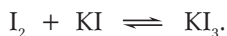
Viszonylagosan alacsony egyenértéktömege miatt célszerűbb a KIO_3 -ból is pontos oldatot készíteni a tioszulfát beállításához, mégpedig úgy, hogy 1,7835 g KIO_3 -ot 500,0 cm³-re oldunk. Az oldat 20,0 cm³-éhez 0,8–1,0 g KI-ot adunk, sósavval vagy kénsavval megsavanyítjuk, és a beállítandó 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal megtitráljuk. A végpont jelzésére keményítőoldatot használunk. A tioszulfát koncentrációját 3–4 titrálás középértékéből számítjuk. Ha a titráláshoz A cm³ tioszulfát fogyott, akkor az oldat koncentrációja :

$$\frac{2,00}{A}.$$

Beállítás 0,1 M KBrO_3 oldatra: A KBrO_3 a megsavanyított KI-oldatra a KIO_3 -hoz hasonlóan hat, vagyis a molekulatömegnyi KBrO_3 három molekula jódot tesz szabaddá.

2.3.4.3. 0,1 M I_2 mérőoldat

A szín-jód vízben csak csekély mértékben oldódik, ezért 0,1 M oldat közvetlenül nem készíthető belőle. Jól oldódik azonban KI-fölöslegében, amivel részben kálium-trijodiddá (KI_3) alakul:



Ha az oldatot olyan redukáló anyaggal hozzuk össze, amely jódot fogyaszt, a fenti egyensúly az alsó nyíl irányába eltolódik, és ugyanannyi jód szabadul fel, mint amennyit feloldottunk. A KI a jód gőznyomását is csökkenti, és így az üveg-dugós üvegben, sötét helyen tartott KI-os I_2 -oldat sokáig megtartja koncentrációját.

A jód atomtömege: $\text{I} = 126,920$ g. A tiszta jódból pontos beméréssel teljesen pontos mérőoldat készíthető, melynek koncentrációbeállítása fölösleges. Üveg-dugós mérőedénykében lemérünk pontosan 12,692 g tisztított és elporított jódot, veszteség nélkül 1000 cm^3 -es mérőlombikba rázzuk, amibe előzetesen táramér-legen 25 g jódátmentes KI-ot mértünk. Ezután $30\text{--}35 \text{ cm}^3$ desztillált vizet öntünk a lombikba, és addig rázogatójuk, míg a jód teljesen feloldódik. A kapott tömény jóddoldatot csak akkor hígítjuk fel, mikor már a jód utolsó nyomai is feloldódtak, mert a hígítást idő előtt végezve, a fel nem oldódott jódrészecskék csak napok múlva oldódnak fel. Miután a lombikot desztillált vízzel jelig töltöttük, alaposan összerázzuk. Az oldat azonnal kész használatra, és sötét helyen, üveg-dugós üvegben tartva, főleg ha dugóját kevésszer nyitogatjuk, sokáig változatlanul eltartható.

0,1 M I_2 oldat beállítása 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -ra: A beállítandó I_2 -oldat $20,0 \text{ cm}^3$ -ét titráló lombikban levő 30 cm^3 vízhez pipetázzuk és pontosan beállított 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal megtitráljuk. Ha e célra $A \text{ cm}^3$ 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ fogyott, akkor a 0,1 M I_2 -oldat pontos koncentrációja:

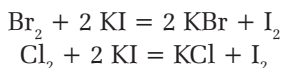
$$\frac{A}{200}.$$

2.3.4.4. Oxidáló anyagok által szabaddá tett jód mérése

2.3.4.4.1. Szabad halogének meghatározása

Jód: Az elemi jód KI-oldatban feloldva tioszulfáttal közvetlenül megtitrálható. A végpont jelzésére keményítőindikátort használunk. Kloroformban, szén-tetra-kloridban stb. oldott jódot úgy határozunk meg, hogy kb. négyszeres mennyiségű híg KI-oldattal összerázzuk, és ismételt rázogatózás közben addig titráljuk, míg a kloroformos fázis éppen elszíntelenedik.

Bróm és klór: E két halogén közvetlenül nem titrálható tioszulfáttal, mivel ezt majdnem kvantitatíve szulfáttá oxidálják. Ha azonban e halogének vizes olda-tához fölös mennyiségben KI-ot adunk, ekvivalens mennyiségű jód válik ki, ami tioszulfáttal titrálható.

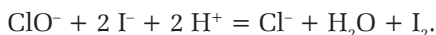


A klór és a bróm vizes oldatban is elég illékony, és kényelmesen pipetázni sem lehet, célszerű tehát a bemérést tömeg szerint végezni úgy, hogy a jó táramérlegen üveg-dugós lombikban kitaráljuk 1 g KI-nak néhány cm^3 vízzel készült oldatát, az-

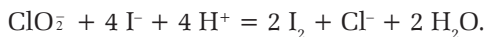
után hozzáöntjük a kívánt mennyiségű klórosvizet vagy brómosvizet és újra mérjük. A kivált jódot 0,1 M tioszulfáttal megtitráljuk. Indikátornak keményítőt használunk. A telített klórosvízből kb. 15 g-ot, a telített brómosvízből pedig kb. 5 g-ot mérünk be. 1 cm³ 0,1 M Na₂S₂O₃ megfelel 3,5457 mg klórnak, illetve 7,9916 mg brómnak.

2.3.4.4.2. Hipokloritok meghatározása

Savanyú közegben KI-oldattal a hipokloritok a következő egyenlet szerint reagálnak:



A kivált jód tioszulfáttal megtitrálható. Régebbi hipoklorit-oldatoknál vagy nyirkos klóros mésznél gyakran tapasztalhatjuk, hogy híg kénsavval vagy sósavval való savanyítás után nagyobb fogyást kapunk, mintha a savanyítást ecetsavval végeztük volna. Ennek az az oka, hogy a hipokloritok vízzel lassanként kloritokká alakulnak. A kloritok ecetsavas közegben csak igen lassan reagálnak KI-dal, míg ásványi savak jelenlétében az átalakulás néhány perc alatt teljessé válik:

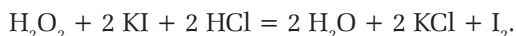


Tiszta hipokloritok tehát ecetsav és kénsav jelenlétében ugyanannyi jódot tesznek szabaddá. Ha ecetsavval való savanyítás után azonnal végezzük a titrációt, csak a hipokloritokat mérjük, ha pedig híg kénsavval vagy sósavval való savanyítás után 2–3 perc múlva titrálunk, a (hipoklorit + klorit)-tartalmat mérjük. Ha a gyakorlatban fehérítésre használt hipokloritok aktív klórtartalmát akarjuk meghatározni, a savanyítást ásványi savakkal végezzük, mivel a klorittartalom is fehérítőleg hat. A kiválasztott jóddal ekvivalens klór adja az oldat aktívklór-tartalmát.

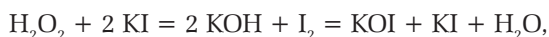
Klórosmész aktívklór-tartalma: Üveg dugós bemérőedénykében lemérünk pontosan 5 g klórosmeszet, és 5 cm³ vízzel porcelánmozsárban addig dörzsöljük, míg homogén pépet nem kapunk. Az elegyet veszteség nélkül 500 cm³-es mérőlombikba öblítjük, vízzel jelig töltjük és alaposan összerázzuk. A homogén oldatból 50,0 cm³-t titrálólombikba pipetázunk, 1–1,5 g KI-ot adunk hozzá, 30 cm³ 10%-os H₂SO₄-val (vagy HCl-val) megsavanyítjuk, és 2 percnyi várakozás után a kivált jódot 0,1 M Na₂S₂O₃-tal megtitráljuk. Indikátornak keményítőt használunk. 1 cm³ 0,1 M Na₂S₂O₃-nak megfelel 3,5457 mg klór. Az eredményt az eredeti anyag százalékos aktívklór-tartalmára számítjuk át.

2.3.4.4.3. Hidrogén-peroxid meghatározása

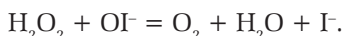
A hidrogén-peroxid savanyú közegben KI-ból jódot választ ki:



Az átalakulás lassan megy végbe, úgyhogy a titrálás előtt az elegyet legalább fél óra hosszat állni hagyjuk. Molibdénsav a reakcióra katalizátorként hat, és így ennek jelenlétében a titrálás minden várakozás nélkül azonnal elvégezhető. Igen fontos, hogy a hidrogén-peroxidot a KI hozzáadása előtt savanyítsuk meg, mert ellenkező esetben reprodukálhatatlan eredményeket kapunk. A



reakció szerint ugyanis hipojodit keletkezik, ami a még változatlan H_2O_2 -ot elbontja:



Meghatározás: 1 g tömény (30%-os) vagy 10 g hígított (3%-os) hidrogén-peroxidot 100 cm³-es mérőlombikba mérünk, vízzel jelig töltjük, majd összerázás után a törzsoldatból 10,0 cm³-t üveg dugós lombikba (jódszámlombik) mérünk. Az oldatot 10 cm³ 10%-os kénsavval megsavanyítjuk, 1 g KI-ot és három csepp 1 M ammónium-molibdátot adunk hozzá, és 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal megtitráljuk. 1 cm³ 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ megfelel 1,70081 mg H_2O_2 -nak. Ha a meghatározást ammónium-molibdát katalizátor nélkül végezzük, a KI hozzáadása után legalább fél óráig ledugaszolva állni hagyjuk az elegyet.

2.3.4.4.4. Permanganátok jodometriás meghatározása

A permanganátok savanyú közegben KI-ból jódot tesznek szabaddá a következő egyenlet szerint:

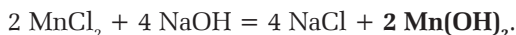


A felszabaduló jód tioszulfáttal megtitrálható. A titrálást permanganátoldatnak pontos tioszulfátra vagy tioszulfátoldatnak pontos permanganátoldatra való beállításánál használjuk. A módszert olyan redukálóanyagok meghatározásánál is értékesítjük, amelyeket permanganát főlegével oxidálunk. A fölös permanganátot jodometriásan mérhetjük vissza.

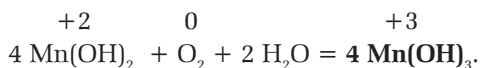
Meghatározás: 20,0 cm³ kb. 0,1 M KMnO_4 -oldathoz 10 cm³ 10%-os H_2SO_4 -at és 1 g KI-ot adunk, majd vízzel 50 cm³-re hígítjuk. A kivált jódot 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal megtitráljuk. 1 cm³ 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ megfelel 3,1605 mg KMnO_4 -nak.

2.3.4.4.5. Vízben oldott oxigén meghatározása Winkler szerint

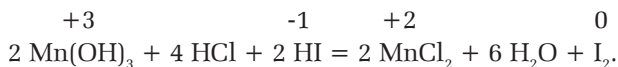
A vízben oldott oxigén jodometriás meghatározásának lényege az, hogy lúgos oldatban a mangán(II)-hidroxid az oldott oxigén hatására mangán(III)-hidroxiddá oxidálódik, ez pedig savanyítás után KI-ből az oxigénnel egyenértékű jódot tesz szabaddá, ami azután tioszulfáttal megtitrálható. Ha tehát az oldott oxigént tartalmazó vízhez mangán(II)só-oldatot és nátronlúgot adunk, először mangán(II)-hidroxid-csapadék keletkezik:



Ha a csapadék feleslegben van, az oldott oxigénnel egyenértékű része mangán(III)-hidroxiddá oxidálódik:



A lúgos, csapadékos oldatban KI-ot oldva és a folyadékot sósavval megsavanyítva a keletkező hidrogén-jodid a mangán(III)-hidroxidot mangán(II)sóvá redukálja, miközben jód válik ki:



A keletkezett szín-jód mennyisége tehát a mangán(III)-hidroxiddal egyenértékű.

Vegyszerek: 10 g tiszta, kristályos mangán(II)-kloridot ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) 20 cm³ desztillált vízben oldunk. 10 g tiszta, nitritmentes szilárd nátrium-hidroxidot 20 cm³ desztillált vízben oldunk. A meghatározást kb. 250 cm³-es jól záró, üveg-dugós kémszerüvegben végezzük, aminek dugóját célszerű ferdén lecsiszolni, hogy buborékmentesen tölthessük meg. A színültig töltött és bedugaszolt kémszerüvegbe férfő víz térfogatát pontosan ismernünk kell. Evégből táramérlegen meghatározzuk az üres és száraz kémszerüveg tömegét dugóval együtt, majd desztillált vízzel színültig töltjük, buborékmentesen ledugaszoljuk, szárazra töröljük és tömegét megmérjük. A többlet a palackba férfő víz tömege.

Meghatározás: Az ismert térfogatú mintavevő üveget fenéig érő üvegcsővön keresztül megtöltjük a vizsgálandó vízzel úgy, hogy a víz legalább háromszor kicserélődjék benne. Ha valamilyen állóvíz vagy folyóvíz meghatározott mélységéből kell mintát venni, különleges mintavevő berendezéseket használunk, melyek a víz többszöri kicserélődését biztosítják. Csapból a mintát üvegcsővel felszerelt gumicsővel vesszük úgy, hogy a víz a mintavevő üvegig levegővel ne érintkezhessek. A teljesen megtöltött üvegbe hosszú és keskeny szárú, 1 cm³-es

kétjelű pipetta segítségével 1 cm^3 lúgot, majd 1 cm^3 mangán(II)-kloridot rétegezünk az edény aljára úgy, hogy a pipetta hegye majdnem az üveg fenekéhez érjen. Az így kiszorított 2 cm^3 vizet utóbb a számításnál figyelembe vesszük és levonjuk a megmintázott víz térfogatából. Ezután a palackot késedelem nélkül, óvatosan bedugaszoljuk, vigyázva, hogy ne maradjon benne légbuborék. Ezt könnyen elérhetjük, ha a dugót előzetesen megnedvesítjük. Ezután a palackot több ízben felfordítjuk, miközben dugóját leszorítva tartjuk. Ha a palack tartalma elegyedett, félretesszük, hogy a keletkezett pelyhes csapadék leülepedjék. Ha a leülepedett csapadék fölött levő folyadék barnás színű és nem teljesen tiszta, a palack tartalmát még néhányszor összerázzuk. Ha az elegyet szükségtelenül sokáig rázzuk, a csapadék pelyhességét elveszti, porszerű lesz és lassan ülepedik. Miután a csapadék leülepedett, hosszú szárú, vízzel nedvesített pipettával 5 cm^3 50 tömeg%-os kénsavat adunk hozzá. Az üveget újból lezárva, a folyadékot többszöri lóbálással elegyítjük. 1–2 perc múlva $0,5\text{ g}$ durván porított KI-ot adunk hozzá, elkeverjük, és a palack tartalmát nagyobb lombikba öblítjük át. A kivált jódot, indikátorul keményítőt használva, $0,01\text{ M Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal megcíméljük. 1 cm^3 $0,01\text{ M Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ megfelel $0,08\text{ mg}$ oxigénnek, illetve $0,056\text{ cm}^3$ normál állapotú oxigéngáznak. A kapott oxigéntartalmat 1 dm^3 vizsgálandó vízre számítjuk át. Az eredmény kiszámításánál a próbához adott nátrium-hidroxid- és mangán(II)-klorid-oldatok térfogatát (2 cm^3) levonjuk a palack térfogatából.

2.3.4.5. Jodometriás cukormeghatározás

Ha valamilyen redukálócukor oldatát **Fehling-oldattal** főzzük, az oldatban lévő II-vegyértékű réz I-vegyértékűvé redukálódik, mely vörös színű réz(I)-oxid alakjában kicsapódik. (A Fehling-oldat nátronlúgos réz(II)-szulfát-oldat, mely a $\text{Cu}(\text{OH})_2$ oldatban tartására Seignette-sót tartalmaz.) A Fehling-oldat erősen lúgos kémhatása miatt a cukormolekula az oxidáción kívül hasadást is szenved, ezért a cukrok Fehling-oldat fogyasztása nem sztöchiometrikus, hanem a cukor anyagi minőségén kívül az oldat lúgosságától, a hevítés idejétől és módjától, valamint a koncentrációtól is függ. Pontosan betartott kísérleti körülmények között azonban egy bizonyos cukorféleség meghatározott mennyisége mindig ugyanannyi Fehling-oldatot fogyaszt. A különböző cukrokra e fogyasztások táblázatba foglalhatók, melyeknek segítségével az ismeretlen koncentrációjú, de ismert minőségű cukrok százalékos cukortartalma meghatározható. A **Schoorl** által kidolgozott cukormeghatározási módszernél a különböző cukorféleségeket azonos koncentrációjú Fehling-oldattal és azonos munkamenetben redukáljuk. Schoorl pontosan bemért Fehling-oldattal dolgozik, és a redukció után megmaradt réz(II)-ionok mennyiségét jodometriásan határozza meg.

Schoorl A-oldat: $69,28\text{ g}$ kristályos réz(II)-szulfátot desztillált vízzel 1000 cm^3 -re oldunk.

Schoorl B-oldat: 346 g Seignette-sót (K-Na-tartarát) és 100 g nátrium-hidroxidot vízzel 1000 cm^3 -re oldunk.

A két oldatot külön edényben tartjuk el. A B-oldat tárolására szolgáló üveg dugós edény dugóját vazelinval leheletvékonyan bekenve óvjuk meg a be ragadástól.

Meghatározás: Jó minőségű üvegből készült 200–300 cm³-es Erlenmeyer-lombikba bemérünk 10,0 cm³ Schoorl A- és 10,0 cm³ Schoorl B-oldatot, hozzámérünk a meghatározandó cukoroldatból annyit, amennyi kb. 70–90 mg cukrot tartalmaz, és annyi vizet adunk hozzá, hogy az összes térfogat mindig 50 cm³ legyen. A lombikot olyan azbesztlapra állítjuk, melyen 6 cm átmérőjű kerek kivágás van, és jól szabályozható Bunsen-égővel forrásba hozzuk (a lángot úgy kell szabályozni, hogy a folyadék kb. 3 perc alatt forrásba jöjjön), majd pontosan 2 percig forraljuk (e forralási idő valamennyi cukornál, még a tejcukornál is elegendő). Forrás közben a lombik szájára kis tölcsezt rakunk, és a folyadékot csak kis lánggal melegítjük, hogy a folyadék térfogata bepárlódás folytán ne változzék lényegesen.

A lombik tartalmát ezután vízcsep alatt gyorsan lehűtjük. Ha a meghatározást jodometriásan akarjuk végezni, hozzáadunk 3 g KI-ot kevés (legfeljebb 10 cm³) vízben oldva, az oldatot 10 cm³ 25%-os kénsavval (1 térf. konc. H₂SO₄ + 6 térf. víz) megsavanyítjuk, és a kivált jódot 0,1 M Na₂S₂O₃-oldattal megtitráljuk, míg a csapadékos folyadék sárga színű nem lesz. Ekkor néhány cm³ keményítő-indikátort adunk hozzá és tovább titráljuk, míg a jódkeményítő kék színe éppen eltűnik, és a réz(II)jodid savósárga színe előtűnik. A jól megtitrált oldat színe néhány percig állandó marad.

Teljesen hasonló körülmények között a Schoorl-oldatokkal vakpróbát végzünk az oldatok koncentrációja megállapítására. A vakpróbát is főzni kell, mert cukor nélkül is redukálódik kevés kétvegyértékű réz. Ha a vakpróbára fogyott tioszulfát térfogatából levonjuk a főkísérletnél fogyott tioszulfát térfogatát, megkapjuk a redukált réznek megfelelő tioszulfát térfogatát. Ebből a Schoorl-féle táblázat segítségével kiszámítjuk a keresett cukor mennyiségét.

2.3.4.6. Zsírok és olajok jódszámának, illetve jódbromszámának meghatározása

Az állati és növényi eredetű zsírok és olajok nagyobb szénatomszámú zsírsavak glicerínésztereinek elegyéből állnak, melyek rendszerint csekély mennyiségű szabad zsírsavakat és el nem szappanosítható, alkoholszerű vegyületeket tartalmaznak. A glicerinnel észterezett zsírsavak közül leggyakoribbak a sztearinsav (C₁₇H₃₅COOH), a palmitinsav (C₁₅H₃₁COOH) és az olajsav (C₁₇H₃₃COOH), de ezen kívül a linolsav (C₁₇H₃₁COOH), linolénsav (C₁₇H₂₉COOH), valamint csekélyebb mennyiségben a vajsav, valeriánsav, kapronsav, kaprilsav stb. glicerínészterei is előfordulnak a zsírokban és olajokban. Az észterek különböző keverési arányban képezik a természetes zsírok és olajok fő tömegét. A szilárd, konzisztens zsírokban a sztearinsavas és palmitinsavas glicerínészterek dominálnak, a

félfolyékony zsírokban és az olajokban az olajsavas glicerinszterek képezik a fő tömeget, míg a száradó olajok fő alkotórészei a linolsavas és linolénsavas glicerinszterek. Az azonos eredetű zsírok és olajok összetétele az előállításuktól és tárolásuktól származó kis ingadozásokon belül eléggé állandó.

A telítetlen zsírsavak (olajsav, linolsav, linolénsav) és ezek glicerinszterei a molekulájukban levő kettős kötésekre halogént képesek addicionálni. A megkötött jód mennyiségét a *jódszámmal* jellemezzük. **A jódszám az a grammokban kifejezett jódmennyiség, amelyet 100 g zsír vagy olaj meghatározott kísérleti körülmények között megkötni képes.**

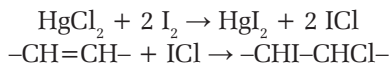
Ha az *egy telítetlen kettős kötést* tartalmazó olajsavra jód hat, a következő kémiai átalakulás megy végbe:



Egy molekulatömegnyi olajsav két atomtömegnyi jódot köt meg, egy molekulatömegnyi (kb. 884 g) olajsavas glicerinszter tehát hat atomtömegnyi ($6 \cdot 127$ g) jódot addicionál. 100 g olajsavas glicerinszterre eszerint 86,2 g jód esik. A tiszta olajsavas glicerinszter jódszáma tehát 86,2.

Hasonló módon számítva a *két telítetlen kettős kötést* tartalmazó linolsavas glicerinszter jódszáma tehát 173,6. A *három telítetlen kettős kötést* tartalmazó linolénsavas glicerinszter jódszáma 260 körül van. A palmitin- és sztearinsav jódszáma nulla, mivel telítetlen kettős kötést egyik sem tartalmaz. Ezek szerint a zsírok általában alacsonyabb jódszámúak, az olajok jódszáma közepes, a száradó olajoké pedig nagy.

A jódszám meghatározása: A jód önmagában csak lassan reagál a telítetlen zsírsavakat tartalmazó zsírokkal, illetve olajokkal, és a kapott termékek összetétele és a megkötött jód mennyisége is nagyon ingadozó. Nagyon jól reprodukálható, állandó értékeket kapunk azonban, ha a szén-tetrakloridban vagy kloroformban oldott zsírra olyan alkoholos jóddoldat hat, melyben két atom jódra számítva legalább egy molekula higany(II)-klorid is van oldva. A jód ugyanis a higany(II)-kloridból csekély mennyiségű klórt tesz szabaddá, ami a jód fölöslegével jód-kloridot alkot. Ez utóbbi azután a telítetlen zsírsavakban levő kettős kötéssel simán reagál:



Kellő várakozási idő betartása, valamint víz és KI hozzáadása után a jódfölösleg tioszulfát mérőoldattal visszatitrálható.

Alkoholos jóddoldat készítése: 25 g jódot 500 cm³ 95 térfogat%-os alkoholban oldunk. Üveg dugós edényben tartjuk.

Alkoholos higany(II)-klorid-oldat készítése: 30 g higany(II)-kloridot 500 cm³ 95 térfogat%-os alkoholban oldunk, ha szükséges, megszűrjük és üveg dugós

edényben tartjuk. A két oldatot külön-külön tartjuk. Használat előtt egyenlő térfogatukat elegyítjük.

Meghatározás: Szilárd zsírokból bemérünk 0,8–1,0 g-ot egy 250 cm³-es üveg dugós Erlenmeyer-lombikba (jód számlombik), hozzáadunk 15–20 cm³ tiszta szén-tetrakloridot, és hozzápipettázunk pontosan 30,0 cm³ alkoholos jódhigany(II)-klorid-oldatot. A lombikot megnedvesített dugóval bedugjuk. Ha a folyadék a kevergetéskor nem lesz teljesen tiszta, még kevés szén-tetrakloridot (kloroformot) adunk hozzá. A jódmennyiségnek annyinak kell lennie, hogy a reakció végén az oldat még barna színű legyen. A jódozás alatt az elegyet közvetlen napfénytől óvjuk. Célszerű a lombikot sötét helyen tartani. 2 óra alatt a reakció befejeződik. Ekkor az elegyhez 15 cm³ 10%-os KI-oldatot adunk, és 100 cm³ vízzel felhígítjuk. Ha vörös csapadék válik ki (HgI₂), a KI kevés volt, ilyenkor még utólag annyit teszünk hozzá, hogy a csapadék feloldódjék. Ezután gyakori rázogatózás közben annyi 0,1 M Na₂S₂O₃-oldatot adunk hozzá, hogy a vizes folyadék és a szén-tetrakloridos fázis csak gyengén sárga színű legyen. Ekkor keményítőindikátort adunk az elegyhez, és alapos rázogatózás közben színtelenre titráljuk.

Vakpróba: A főkísérlettel egyidejűleg zsír, illetőleg olaj nélkül az alkalmazott kémszerekkel vakpróbát végzünk, mellyel egyszersmind a jóddat koncentrációját is beállítjuk. A jóddat koncentrációja ugyanis idővel csökken. Száradó olajoknál a hosszú várakozási idő miatt a kísérlet elején és a kísérlet végén is végzünk vakpróbát. A két vakpróba középértékéből számítjuk a jóddat koncentrációját.

A vakpróbára és a főkísérletre fogyott 0,1 M Na₂S₂O₃ térfogatának különbsége a zsír, illetve olaj által elfogyasztott jóddal egyenértékű. 1 cm³ 0,1 M Na₂S₂O₃ megfelel 12,692 mg jódnak. A jódszámot megkapjuk, ha az elfogyott jód mg-okban kifejezett mennyiségének százszorosát osztjuk a bemért olaj vagy zsír mg-okban kifejezett mennyiségével.

2.4. Csapadékos titrálási módszerek

A csapadékos titrálási módszereknél a meghatározandó alkotórészt olyan mérőoldattal titráljuk, mely azt oldhatatlan csapadék alakjában kiválasztja. A csapadék teljes leválasztásához szükséges mérőoldat térfogatából következtethetünk a meghatározandó alkotórész mennyiségére. Térfogatos meghatározásra csak azok a csapadékos reakciók alkalmasak, amelyeknél a csapadék összetétele jól definiált, a reakció elég gyors, a kiváló csapadék oldhatósága elég kicsi, és a reakció végpontját jól tudjuk észlelni. A végpont észlelésére a reakciók specifikus volta miatt nem használhatunk olyan általános indikátorokat, mint a neutralizációs vagy oxidimetriás meghatározásoknál tettük, hanem jóformán minden meghatározási módszernél külön indikátortípust kell alkalmazni. Számos egyértelműen lefolyó kvantitatív csapadékos reakciót nem tudunk térfogatos meghatározásra hasznosítani az indikátor hiánya miatt.

A csapadékos titrálások *ekvivalenciapontját* a kivált csapadék oldhatósági szorzata szabja meg. Ha ugyanis pl. AgNO_3 - és NaCl -oldat egyenértékű mennyiségét összeöntjük, a keletkező AgCl -csapadék felett lévő oldat a csapadék kisfokú oldhatósága miatt Ag^+ -ionokat és Cl^- -ionokat is tartalmaz. A tömeghatás törvénye értelmében az ezek koncentrációiból alkotott szorzat, az *oldhatósági szorzat*, a koncentrációk abszolút értékétől független állandó szám.

$$[\text{Ag}^+] \cdot [\text{Cl}^-] = L = 10^{-10}.$$

Az ekvivalenciapontban azonban az Ag^+ -ionok és Cl^- -ionok koncentrációja egymással is egyenlő, tehát

$$[\text{Ag}^+] = [\text{Cl}^-] = 10^{-5}.$$

Az oldhatósági szorzat a tárgyalt egyszerű esetben formális analógiát mutat a víz ionszorzatával. Savak, illetve lúgok titrálásánál az ekvivalenciapontban az oldat hidrogén- és hidroxidion-koncentrációja egyenlő egymással és az ionszorzat négyzetgyökével. Az analógia teljesebbé válik, ha a pH fogalmához hasonlóan itt is bevezetjük az ionexponenst (pI): Az ionexponens az ionkoncentráció tízes alapú negatív logaritmus.

$$\text{pAg} = -\log [\text{Ag}^+]; \quad \text{pCl} = -\log [\text{Cl}^-]$$

Az oldhatósági szorzat negatív logaritmusát véve, a következő kifejezést kapjuk:

$$\text{pAg} + \text{pCl} = -\log L \approx 10.$$

Az ekvivalenciapontban pedig:

$$\text{pAg} = \text{pCl} = -1/2 \log L \approx 5.$$

Ha tehát akár kloridionokat titrálunk AgNO_3 mérőoldattal, akár ezüstionokat NaCl mérőoldattal, a titrálást akkor kell befejeznünk, ha az oldat ionexponense ezen ionokra nézve öt. Hasonló körülmények között jodidionos oldatot titrálva AgNO_3 mérőoldattal az ekvivalenciapontban az ionexponensnek nyolcnak kell lennie, mivel az AgI oldhatósági szorzata:

$$L_{\text{AgI}} = 10^{-16}.$$

2.4.1. Néhány módszer a csapadékos titrálások végpontjának jelzésére

Titrlások K_2CrO_4 -indikátorral Mohr szerint: Ha a titrlás folyamán kiváló csapadék fehér vagy csak gyengén színezett, a végpont jelzésére olyan indikátort

használhatunk, mely a meghatározandó ionnal vagy lecsapószer fölöslegével élénk színű, nehezen oldható csapadékot ad. Példa erre a halogenidek argentometriás meghatározása K_2CrO_4 -indikátor jelenlétében Mohr szerint. Ha valamilyen klorid oldatát K_2CrO_4 jelenlétében titráljuk, úgy előbb $AgCl$ válik ki, mivel ez oldhatatlanabb, mint az Ag_2CrO_4 . Ha azonban az oldatban levő összes kloridot lecsaptuk, az $AgNO_3$ első cseppjének fölöslegétől vörösbarna Ag_2CrO_4 -csapadék válik le, amiről a titrálás végpontja észrevehető. A meghatározás természetesen csak semleges közegben sikerül, mert az Ag_2CrO_4 savanyú közegben feloldódik, míg lúgos közegben Ag_2O , esetleg Ag_2CO_3 keletkezik.

Titrlások vas(III)-só indikátorral Volhard szerint: A csapadékos titrlások végpontjának jelzésére olyan indikátort is használhatunk, mely a mérőoldat fölöslegével intenzív színű, oldható vegyületet alkot. Az indikátor színváltozásának természetesen itt is az ekvivalenciapont közelében kell bekövetkeznie. A Volhard-féle ezüsttitrlásoknál mérőoldatnak ammónium- vagy kálium-rodanidot használunk, míg a végpont jelzésére vas(III)-só-oldatot alkalmazunk. Ha ezüst-sóoldathoz vas(III)-só jelenlétében rodanid mérőoldatot csepegtetünk, oldhatatlan ezüst-rodanid-csapadék keletkezik, amelynek oldhatósága olyan kicsi ($L = 10^{-12}$), hogy az oldatban színes vas(III)-rodanid nem keletkezhet. Az ekvivalens mennyiségű rodanid hozzáadása után azonban az első csepp mérőoldat-fölslegtől az oldat intenzív vörös színű lesz. Mivel az ezüst-rodanid oldhatóságát híg savak alig befolyásolják, valamint a vas(III)-rodanid is érzéketlen savakkal szemben, a Volhard-féle módszer, a Morh-félével ellentétben, savanyú közegben is alkalmazható.

Indikátornak vas(III)-ammónium-szulfát (vastimsó)-oldatot használunk, amit annyi híg salétromsavval savanyítunk meg, hogy az oldat barna színe világossárgára változzék (10 g vastimsót 80 cm³ vízben és 10 g 25%-os salétromsavban oldunk). 100 cm³ titrlándó oldatra 4–6 cm³ indikátort használunk. (Használhatjuk indikátornak a vastimsó telített oldatát is, amihez annyi salétromsavat adunk, hogy az oldat barna színe sárgára változzék. Az így kapott kb. 30%-os oldatból 100 cm³ titrlándó oldathoz 2 cm³-t adunk.)

2.4.2. 0,1 M NaCl mérőoldat készítése

A nátrium-klorid (egyenértéktömeg 58,454 g) tisztán előállítható, nem higroszkópos, összetétele megfelel a képletével kifejezett összetételnek, és a belőle készült oldat tetszés szerinti ideig, változás nélkül eltartható. A nátrium-klorid mérőoldat tehát kiválóan alkalmas ezüstionok pontos meghatározására, valamint ezüst-nitrát mérőoldat beállítására és ellenőrzésére. A sóból 1 dm³ 0,1 M mérőoldathoz 5,8454 g-ot mérünk be, és vízzel 1000,0 cm³-re oldjuk.

2.4.3. 0,1 M AgNO₃ mérőoldat készítése

A finoman elporított, tiszta ezüst-nitrátot nagy óraüvegen vékony rétegben kiterítjük, és szárítószekrényben, pormentes helyen 130 °C-on 3–4 óra hosszat szárítjuk. Kihűlés után lemérünk belőle pontosan 16,9888 g-ot, mérőlombikban 1000 cm³-re oldjuk. A portól és közvetlen napfénytől védett oldat csiszoltdugós üvegedényben tetszés szerinti ideig változatlanul eltartható. A kész oldatot 0,1 M NaCl-ra állítjuk be.

A mérőoldat beállítása Mohr szerint: 20,0 cm³ 0,1 M NaCl-oldathoz 1 cm³ K₂CrO₄-indikátort adunk, és a beállítandó 0,1 M AgNO₃ mérőoldattal alapos rázogatás közben maradandó vörösbarna színeződésig titráljuk.

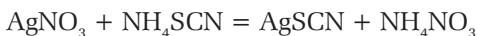
2.4.4. 0,1 M NH₄SCN (KSCN)-oldat készítése és beállítása

A mérőoldat készítésénél úgy járunk el, hogy a molekulatömege 0,1 részénél valamivel többet lemérünk táramérlegen [NH₄SCN-ből 8,50 g-ot (molekulatömeg: 76,120 g); KSCN-ből 10,50 g-ot (molekulatömeg: 97,176 g)], és vízzel 1 dm³-re oldjuk.

A mérőoldat beállítása: 20,0 cm³ ismert koncentrációjú 0,1 M AgNO₃-oldathoz 10 cm³ 10%-os HNO₃-at, és 2–4 cm³ salétromsavas vas(III)-ammónium-szulfát indikátort adunk. A beállítandó 0,1 M rodanidoldattal állandó rázogatás közben addig titráljuk, míg az oldat éppen észrevehetően vörösbarna lesz, és a színeződés újabb alapos összerázás után sem tűnik el.

2.4.5. Az ezüst csapadékos meghatározása

Volhard módszere: Az ezüstionokat tartalmazó salétromsavas oldatot vas(III)só indikátor jelenlétében ammónium-rodanid mérőoldattal addig titráljuk, míg alapos összerázás után a folyadék vas(III)-rodanid keletkezése folytán vörösbarna színű lesz.



A titrálandó oldat savtartalma tág határok között ingadozhat, azonban 0,3 M HNO₃-nál ne tartalmazzon kevesebbet. A szokásos titrálási térfogatok mellett általában 10–20 cm³ 2 M HNO₃-val savanyítunk. A savanyításra használt salétromsavnak nitrogén-oxidokat nem szabad tartalmaznia, mert ezek az ammónium-rodanidot elroncsolják. Célszerű tehát az alkalmazott savat előzetesen kifőzni. A titrálás végpontja közelében a folyadékot igen erőlyesen kell rázogatnunk, mert a kivált ezüst-rodanid csapadék jelentős mennyiségű ezüstöt köt meg adszorpció útján, ami csak erős rázogatásra deszorbeálódik. Éppen ezért a titrálásokat célszerű jól záró üvegdugós edényben végezni.

A titrálás pontossága 0,1 M oldatok alkalmazása esetén, ha a titrálást alapos rázogatós közben fejezzük be, 0,01–0,02%. 1 cm³ 0,1 M NH₄SCN megfelel 10,788 mg ezüstnek.

2.4.6. Kloridionok meghatározása

Meghatározás Mohr szerint: A meghatározandó oldatnak semleges kémhatásúnak kell lennie, mert savanyú közegben a reakció végpontját jelző ezüst-kromát oldódik, lúgos közegben pedig ezüst-oxid, esetleg ezüst-karbonát válhat ki. Az oldat pH-jának 6,5–10,5 közé kell esni. Indikátornak 100 cm³ titrálendő oldatra 2 cm³ 5%-os semleges K₂CrO₄-oldatot használunk. Mivel az ezüst-kromát oldhatósága a hőmérséklettel nő, a titrálást csak szobahőmérsékletű oldatban végezhetjük.

Meghatározás: Kb. 0,07 g kloridiont tartalmazó semleges vagy semlegesített oldathoz 1 cm³ 5%-os K₂CrO₄-oldatot adunk, vízzel kb. 50 cm³-re hígítjuk, és 0,1 M AgNO₃-oldattal, állandó rázogatós közben, maradandó vörösbarna színeződésig titráljuk. 1 cm³ 0,1 M AgNO₃ megfelel 3,5457 mg Cl⁻-nak; 5,8454 mg NaCl-nak; 7,4553 mg KCl-nak, illetve 3,6465 mg HCl-nak. A titrálás pontossága ± 0,1%.

Ivóvizek kloridtartalmának meghatározása: A vizsgálandó víznek mindekeleltől neutrálvörössel megállapítjuk a kémhatását. Ha az oldat savanyú (az indikátor vörös színt mutat), kevés KHCO₃-ot adunk hozzá, ha erősen szódataralmú vízről van szó (szikes talajok vize), előbb néhány csepp HNO₃-val megsavanyítjuk, majd bikarbonáttal közömbösítjük. A vizsgálandó víz 100,0 cm³-ét egy-két cm³ 5%-os K₂CrO₄ indikátor mellett 0,01 M AgNO₃-tal gyengén barnás-vörös színűre titráljuk, majd az oldat térfogatát desztillált vízzel 150 cm³-re töltjük fel, és erőlyes rázogatós közben végpontig titráljuk.

2.4.7. Jodidionok meghatározása

Titrálás indikátor nélkül: Híg jodidoldatoknak ezüst-nitrát mérőoldattal való titrálása alkalmával az oldatban levő fölös jodidionok peptizálólág hatnak a keletkező AgI-csapadékra, ezért az oldat tökéletes kitisztulása csak az ekvivalenciapontban következik be, mikor a jodidionok teljesen elfogynak az oldatból. A kitisztulási pontig való titrálás híg és tiszta jodidok oldatában igen pontos eredményeket ad. A kiindulási oldat jodidion-koncentrációja legfeljebb 0,04 M lehet.

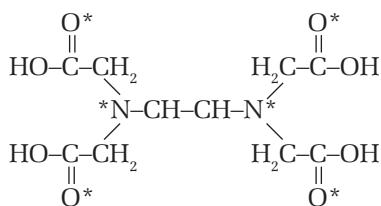
Meghatározás: Kb. 0,25 g I⁻-ot tartalmazó tiszta jodidoldatot vízzel 60–70 cm³-re hígítunk, és üvegduós edényben, alapos rázogatós közben 0,1 M AgNO₃-oldattal óvatosan titráljuk. Az ekvivalenciapont elérése előtt kb. 1%-kal az AgI-csapadék koagulálni kezd, a fölötte levő folyadék azonban zavaros marad. Ettől kezdve cseppenként titráljuk tovább, minden csepp hozzáadása után alaposan összerázva a folyadékot. Az ekvivalenciapontban a csapadék fölötte levő folyadék hirtelen kitisztul. Tiszta, idegen sótól mentes jodidoldatban ily módon igen pontos eredményeket kapunk. Egy cm³ 0,1 M AgNO₃-oldat megfelel 12,692 mg I⁻-nak.

2.5. Komplex vegyületek képződésén alapuló módszerek

2.5.1. Komplexometria. Kelatometria

A komplexometria a mérendő komponensek és a komplexometriás reagensek között kellő stabilitással bíró komplexek kialakulásán alapszik. Szükséges, hogy a keletkező komplex nagy stabilitású legyen, ugyanis ettől függ a titrálási görbe meredeksége, azaz a titrálás végpontjának élessége. Lényeges, hogy a mérőoldat mennyisége a komplexképződésben részt vevő alkotórésszel a titrálás folyamán, illetőleg annak végpontjában sztöchiometriásan egyértelmű legyen, azaz a komplex a titráláskor sztöchiometriás összetételben keletkezzék, illetve a titrálás végpontjában sztöchiometriás összetételűvé válják. Lényeges még, hogy a titrálás végpontja jól észlelhető, lefutása pedig gyors legyen. A komplexek stabilitását a stabilitási állandóval – ami a disszociációállandó reciproka –, illetőleg ennek logaritmusaival jellemezzük. Vizes oldatokban mind az egyfunkciós, mind a többfunkciós ligandumokkal stabil komplexeket képezhetünk, a többfunkciós ligandumokkal képzett komplexeket azonban nagyobb stabilitás jellemzi.

Az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) vízben kevésbé oldódó, négyértékű sav:



Ezért képletét rövidítve gyakran H_4Y -nal jelölik, ahol az Y^{4-} az etilén-diamin-tetraacetátion. A savas hidrogének közül kettő könnyen, kettő pedig nehezen disszociál (az egyes savexponensek értéke: $\text{pK}_1 = 2,0$; $\text{pK}_2 = 2,7$; $\text{pK}_3 = 6,2$; $\text{pK}_4 = 10,3$), ezért mint kétértékű sav közepes erősségű. A vegyületnek különös jelentőséget ad az a körülmény, hogy a *-gal megjelölt atomjai könnyen leadható elektrópárral rendelkeznek, és így komplexképzésre hajlamos (elektronakceptor) fémionokkal igen stabilis belső komplexeket (kelát komplexek) alkot. A komplexképzésre való hajlamosságra jellemző, hogy nemcsak az átmenetifémek ionjaival, hanem még a zárt elektronoktettel rendelkező alkáliföldfémek ionjaival (Mg^{2+} , Ca^{2+} , ...) is képes komplexeket alkotni. E komplexek erősségét a stabilitási állandó exponensének ($\text{pK} = -\log K$) értékeiből ítéldhetjük meg (3. táblázat).

3. táblázat. Néhány fém komplex stabilitási exponense

Me^{n+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Mn^{2+}	Zn^{2+}	Pb^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Cr^{3+}	Fe^{3+}
pK	8,6	10,6	13,7	16,2	18,0	18,3	18,5	24	25

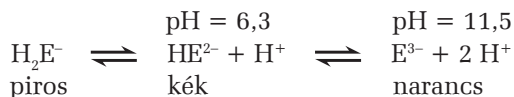
Mivel a komplexképző etilén-diamin-tetraecetsav molekula egyidejűleg sav is, a fémkomplexek stabilitása a pH-nak is függvénye. Ez abban nyilvánul meg, hogy minél jobban eltolódik a pH a savas tartomány felé, a fémkomplexek annál inkább elbomlanak fémionra (Me^{n+}) és etilén-diamin-tetraacetátra. E bomlás annál kisebb, minél stabilabb komplexről van szó. Ezért a Fe^{3+} és Cr^{3+} még savas közegben is állandó komplexeket adnak, míg a kétértékű kation komplexek savas közegben rendszerint elbomlanak. Az etilén-diamin-tetraecetsav másik fontos tulajdonsága, hogy mint hatfogú ligandum, a fémionnal egy lépésben ad komplexet, amikor is azonnal kialakul az oktaéderes (néha tetraéderes) elrendeződés. Az etilén-diamin-tetraacetát tehát a fémiont rákolló módjára teljesen körülöleli, amikor öt darab öttagú stabilis kelátgyűrű alakul ki.

Az etilén-diamin-tetraecetsavnak ez az erős komplexképző hajlama adta a gondolatot arra, hogy ezt az anyagot fémionok komplexképzésén alapuló meghatározására alkalmazzák. E célra a vízben jól oldódó és az ipar által vízlágyítási célra forgalomba hozott dinátriumsót ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) alkalmazzuk, mely különböző neveken, hazánkban Komplexon(III) néven kerül kereskedelmi forgalomba.

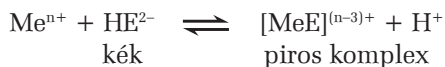
2.5.1.1. Komplexometriás indikátorok

Komplexonnal való titrálás közben tehát, ha a pH megfelelően van megválasztva, a fémion-koncentráció eleinte lassan, később erősen változik, míg végül az egyenértékpontban ugrásszerűen igen kis értékre csökken. A végpont jelzésére olyan fémindikátorok alkalmasak, amelyek a meghatározandó fémionnal laza, színes komplexet alkotnak. A fémionmentes indikátor színe eltérő a fémkomplexétől. A titrálás során a Komplexon(III) először a szabad fémionokat köti meg, azután a színes indikátorkomplexre kerül sor. A Komplexon(III) erősebb komplexet alkotván a fémionnal, mint a fémindikátor, a színes komplexből elvonja a fémiont, és így színváltozás következik be, ami a titrálás végpontját jelzi. A komplexometriás titrálásokhoz az Erikrómfekete T és a Murexid fémindikátorok használatosak.

Erikrómfekete T: kémiai neve: 1',2'-dioxi-5-nitro-(1,2')-azonaftalin-4-szulfonsavas-Na (rövidítve NaH_2E). A fémionokkal négyfogú ligandum gyanánt viselkedik. A fémionmentes színezékion (H_2E^-) a pH-tól függően más és más színt mutat:



A pH = 6,3–11,5 intervallumban stabilis kék forma fémionokkal piros színű komplexet ad:



A színezék indikátortulajdonságai tehát $\text{pH} = 6,3\text{--}11,5$ intervallumban érvényesülnek. Komplexometriás titrálásokra legalkalmasabb azonban a $\text{pH} = 9\text{--}10$ intervallum, amit $\text{NH}_3 + \text{NH}_4\text{Cl}$ pufferrel egyszerűen meg lehet valósítani. Az indikátor vizes oldatban lassanként bomlik, ezért finoman elporított KNO_3 -tal keverve szilárd formában vagy szódás propil-alkoholos oldatban alkalmazzák.

Szilárd indikátor készítése: 50 g finoman elporított KNO_3 -ot 0,1 g Eriokróm-fekete T szilárd színezékkel alaposan elkeverünk. Egy titráláshoz kb. 0,3 g indikátorkeveréket használunk.

Propil-alkoholos Eriokrómfekete T indikátor készítése: 1 g szilárd Eriokróm-fekete T indikátort 30 cm³ vízben oldunk, melyhez 1 cm³ 1 M Na_2CO_3 -oldatot adunk. Oldódás után izopropil-alkohollal 100 cm³-re egészítjük ki. Egy titráláshoz 4–6 csepp indikátort használunk.

I. Pufferoldat $\text{pH} = 9\text{--}10$ beállítására: 0,83 g NH_4Cl -ot kevés vízben oldunk, 11,3 cm³ koncentrált NH_4OH -ot adunk hozzá, és vízzel 100 cm³-re hígítjuk. Egy titráláshoz 5 cm³ oldatot használunk. E puffermennyiség legfeljebb 0,01 mol/dm³-es oldatokkal való titrálás esetén elegendő. Töményebb oldatok titrálásakor több NH_4Cl -ot, illetve NH_4OH -ot kell alkalmaznunk a pufferkapacitás növelése céljából, különben könnyen előfordulhat, hogy egyes fémhidroxidok $[\text{Mg}(\text{OH})_2]$ kicsapódnak. 0,05 mol/dm³ koncentráció körül 100 cm³ titrálási térfogatra 0,25 g szilárd NH_4Cl -ot és 10 cm³ 10%-os NH_4OH -ot célszerű a közel semleges oldathoz mérni.

Murexid (ammóniumpurpureát): Erősen lúgos közegben ($\text{pH} > 12$) a murexid ibolyaszínt mutat. Fémionok (Ca^{2+} -ion) hatására lazacvörös komplexet ad. Titrálásakor a Komplexon(III) kivonja a fémiont ezen komplexből, és a murexid saját színe előtűnik. Az indikátort Ca^{2+} , Cu^{2+} és Ni^{2+} komplexometriás titrálásánál alkalmazzuk. Utóbbi két iont híg NH_4OH -oldattal tartjuk oldatban.

Murexidindikátor készítése: 50 g finoman porított KNO_3 -ot (vagy NaCl -ot) 1 g murexiddel elkeverünk. Egy titráláshoz kb. 0,1 g keveréket használunk. Használatos a murexid telített vizes oldata is indikátornak.

II. Pufferoldat: 2 g NaOH -ot 50 cm³ kiforralt és lehűtött vízben oldunk. A kb. mólós oldatot célszerű belül paraffinozott edényben tartani. Az oldatból néhány cm³-t alkalmazunk egy titráláshoz, hogy a titrálandó oldat biztosan erősen lúgos ($\text{pH} > 12$) legyen.

2.5.1.2. Komplexon(III)-mérőoldat készítése

A titrálásokat 0,1 mólós, 0,05 mólós, 0,01 mólós vagy 0,001 mólós Komplexon(III)-mérőoldattal szoktuk végezni (molekulatömeg = $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 372,2$ g). A vízkeménység meghatározásához legtöbbször a kb. 0,01 mólós oldatot használjuk. Ezt úgy készítjük, hogy 3,8 g Komplexon(III)-hoz 800 cm³ vizet és 0,86 g NaOH -ot adunk, majd oldódás után vízzel 1 dm³ feltöltjük. Az oldat hatóértékét MgSO_4 -ra állítjuk be. 1 cm³ pontos 0,01 mólós Komplexon(III)-oldat 0,01 mmol fémiont mér.

MgSO₄-törzsoldat készítése: A kristályos MgSO₄ · 7 H₂O rendszerint sztöchiometrikus összetételű, és egyszerű beméréssel pontos oldat készíthető belőle. 0,01 mólos MgSO₄-oldat készítéséhez 2,4649 g-ot mérünk le, és vízzel 1000 cm³-re oldjuk.

A 0,01 mólos Komplexon(III)-oldat beállítása: 20,0 cm³ MgSO₄-törzsoldatot titráló lombikba pipettázunk, 5 cm³ (NH₃–NH₄Cl) I Pufferoldatot adunk hozzá, és vízzel kb. 50 cm³-re hígítjuk. Késhegynyí (kb. 0,3 g) Eriokrómfekete T szilárd indikátorkeverék hozzáadása után a beállítandó 0,01 mólos Komplexon(III)-mal addig titráljuk, míg az oldat színe pirosból az ibolyáskék színárnyalaton keresztül égszínkébe csap át. A végpont közelében a titrálást lassan végezzük. A mérőoldat hatóértékét célszerű 0,01 mmol/cm³-ben megadni.

Magnézium-komplexonát törzsoldat: A titrálás eredménye alapján készíthetünk magunknak Mg-komplexonát törzsoldatot egyenértékű MgSO₄-törzsoldat és Komplexon(III)-mérőoldat összeöntésével (indikátor nélkül).

2.5.1.3. Kalcium és magnézium együttes mennyiségének megállapítása.

A víz összes keménységének meghatározása

A komplexometriás kalcium-magnézium-meghatározás főként a víz összes keménységének meghatározása szempontjából nagy jelentőségű. A titrálás pH = 9–10 körüli értéknél Eriokrómfekete T indikátor jelenlétében elvégezhető. A Komplexon(III) ugyanis a Ca²⁺-ionokkal, az indikátor viszont a Mg²⁺-ionokkal alkot erősebb komplexet. A titrálás során tehát a Komplexon(III) először a Ca²⁺-ionokat köti meg, és csak ezután egyesül a Mg²⁺-ionokkal. Végül a titrálás végpontja körül kiszorítja a komplexből az indikátort, és ezért az oldat színe pirosból kékbe csap át. A titrálás Mg²⁺-ionok nélkül nem végezhető el, mert a Ca²⁺-ionok Eriokrómfekete T-vel nem adnak komplexet.

Meghatározás: 50,0 cm³ vízmintához 1–5 cm³ (NH₃–NH₄Cl) I Pufferoldatot és egy kis kanálka Eriokrómfekete T indikátorkeveréket adunk, majd 0,01 mólos Komplexon(III)-mal addig titráljuk, míg a szín pirosból kékbe csap át. 1 cm³ 0,01 mólos Komplexon(III)-oldat megfelel 0,4008 mg Ca-nak, illetve 0,2432 mg Mg-nak.

Magnéziumion-mentes vízben a titrálás nem megy. Ha az oldat kevés Mg²⁺-ionot tartalmaz, a színátcsapás nem elég éles. A színátcsapást élesebbé tehetjük, illetve a meghatározást Mg²⁺-ion mentes oldatban is elvégezhetjük, ha a meghatározandó oldathoz 10–20 csepp Mg-komplexonát törzsoldatot adunk. A Ca²⁺-ionok ugyanis egyesülve a Komplexon(III)-mal, szabaddá teszik a Mg²⁺-ionokat. Ezek viszont az Eriokrómfekete T indikátorral egyesülnek piros színű komplexszé. Titrálás közben azonban az Eriokrómfekete T kék színe éppen akkor jelenik meg, amikor az oldathoz a Ca²⁺-ionokkal egyenértékű Komplexon(III)-at adunk.

2.5.1.4. A kalcium komplexometriás meghatározása

A kalcium szelektíven meghatározható magnézium mellett is, ha a végpont jelzésére murexidindikátort alkalmazunk és természetesen erősen lúgos közegben dolgozunk. A murexid ugyanis gyengébb komplexképző anyag révén, a Mg^{2+} -ionokat már meg sem köti, de a Ca^{2+} -ionokkal piros színű komplexet alkot. Komplexon(III)-mal való titrálás alkalmával egyenértékű mérőoldatot adunk az oldathoz. A módszer tehát alkalmas egy vízminta kalciumsók okozta keménységének közvetlen meghatározására.

Meghatározás: 50 cm^3 vizsgálandó vízmintát titráló lombikba mérünk, hozzáadunk $2\text{--}5\text{ cm}^3$ 1 M NaOH -ot (II. Puffer) és kb. $0,1\text{ g}$ szilárd murexidindikátort, majd $0,01$ mólos Komplexon(III)-oldattal addig titráljuk, míg az oldat lazacvörös színe kékesibolyába csap át. Az oldatot lúgosítás után azonnal titrálni kell, mert állás közben a levegő vagy a lúg esetleges CO_2 -tartalma következtében CaCO_3 válhat ki. 1 cm^3 $0,01$ mólos Komplexon(III)-oldat $0,4008\text{ mg Ca}$ -ot mér.

2.5.1.5. A vas(III)-ionok komplexometriás meghatározása

A vas(III)-ionok jelenlétében, gyengén savas közegben, a variaminkék B indikátor kékesibolya oxidációs szintet mutat. Ha az oldathoz Komplexon(III)-at adunk, ez a vas(III)-ionokat megköti, és az oldat redoxipotenciálja a variaminkék B átcsapási potenciáljánál negatívabbá válik. Az indikátor tehát elszíntelenedik. A variaminkék e viselkedése alapján alkalmas vas(III)-ionok komplexometriás meghatározásának végpontjelzésére.

Meghatározás: A kb. 20 cm^3 $0,01$ mólos gyengén savas vas(III)-só oldathoz kezdődő csapadék kiválásig NaOH -oldatot adunk, majd annyi koncentrált hangyasavat, hogy a csapadék feloldódjék. $1\text{--}2\text{ cm}^3$ hangyasavat adunk még hozzá feleslegben, és az oldatot $40\text{--}50\text{ }^\circ\text{C}$ -ra melegítjük. Ezután 1 csepp 1% -os variaminkék B indikátort adunk hozzá, és az oldatot azonnal titráljuk addig, amíg annak színe kékesibolyából a vas(III)-komplexonátnak megfelelő tiszta sárga színbe nem vált. 1 cm^3 $0,01$ mólos Komplexon(III)-oldat megfelel $0,5585\text{ mg}$ vasnak. A titrálás szulfoszalicilsav indikátor jelenlétében is elvégezhető.

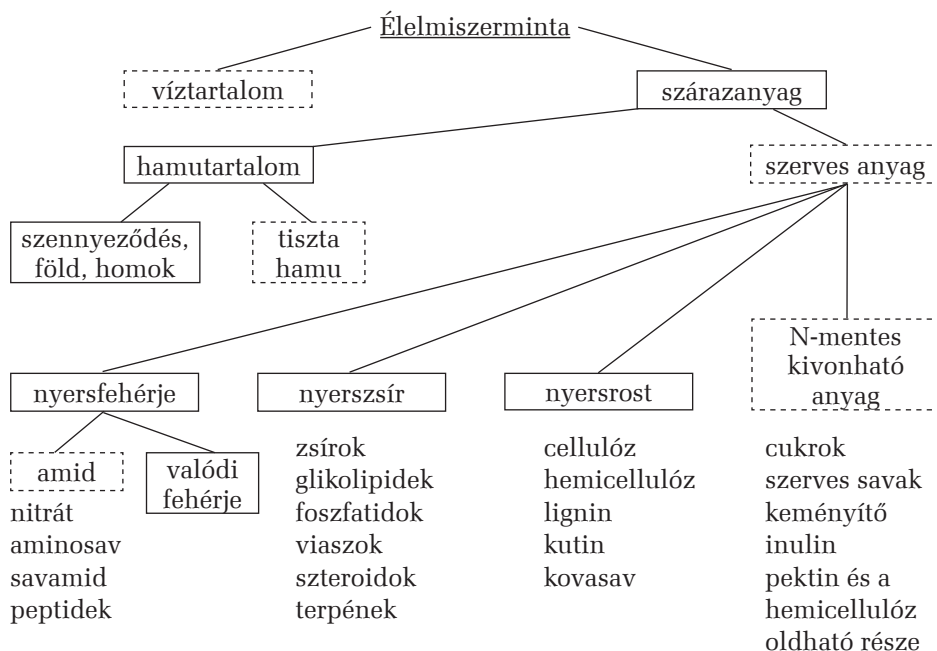
3. fejezet

Élelmiszerek összetételének meghatározása

Az emberi és az állati test, valamint a növények 95%-a szénből, oxigénből, hidrogénből és nitrogénből áll, a maradékot pedig kb. 12–15 létfontosságú elem alkotja. Az ezekből felépülő szerves anyagok a fehérjék, a szénhidrátok és a zsírok. Az élőlények csoportjainak hasonló a felépítése; az összetételben a leglényegesebb különbség az, hogy az állati szervezet nem tartalmaz cellulózt vagy más rostot alkotó anyagot. Mind az állatok, mind a növények tömegének 70–80%-át a víz teszi ki, ami az élet nélkülözhetetlen anyaga, hisz minden életjelenség vizes közegben végbemenő kémiai-biokémiai reakciók sorozata. A fejlődéssel párhuzamosan mind az állatokban, mind a növényekben csökken a víztartalom, és a szárazanyagban nő a zsírok aránya. A víz eltávolítása után visszamaradó szárazanyag fehérjékből, cukrokból, poliszacharidokból, lipidekből, valamint szerves és szervetlen kötésű ásványi anyagokból áll. Ezen utóbbiak alkotják a magasabb rendű állatok csontjának szilárd vázát.

Napjainkban még mindig a múlt század elején kidolgozott módszereket használják az élelmiszerek tápláléértékének meghatározására, aminek során az élelmiszereket alkotó anyagokat tulajdonságaik alapján főbb csoportokba sorolják. A vizsgálati műveletek során szárítással meghatározzák a szárazanyag-tartalmat, hamvasztással a hamutartalmat, Kjeldahl módszerével a nitrogéntartalmat, zsírolószerekkel való extrahálással a zsírtartalmat, valamint híg savval és lúggal való főzéssel a nyersrosttartalmat. A szerves savakat és a szénhidrátokat számítással határozzák meg úgy, hogy a szárazanyagból levonják az előbbi frakciók összegét, így megkapják a nitrogénmentes kivonható anyagokat, melyek közé tartoznak a cukrok, a szerves savak, a keményítő, az inulin, valamint a pektin és a hemicellulóz oldható része.

A múlt század eleje óta az élelmiszer-analitikai módszerek sokkal gyorsabban és érzékenyebbek lettek, az élelmiszerek tápláléértékének meghatározása azonban a makroösszetételt illetően elviekben nem sokat változott. Az élelmiszerek összetételét, a klasszikus módszerek szerinti felosztását a 12. ábra tartalmazza. Az összeállításban a folyamatos vonallal bekeretezett komponenst mérés, a szaggatott vonallal bekeretezett pedig számítással határozzuk meg.



12. ábra. Az élelmiszer-komponensek csoportosítása

Az élelmiszer minőségének megállapítása céljából végzett vizsgálat a **mintavétellel** kezdődik, amely során a minősítendő anyagnak azt az egyértelműen elkülöníthető részét, aminek jellemzői egységesek, **tételnek** hívjuk. Az egy tételhez tartozó élelmiszer azonos fajtájú, azonos termő- vagy termelési helyről származik, egy évben termett vagy termelték, és egy tárolóhelyen raktározták. Vásárolt élelmiszer esetén egy szállítmány állhat egy vagy több tételből is. Hogy a vizsgálandó tétel homogenitásáról meggyőződjünk, a tételt két vagy több mintavételi alpra bontjuk. A **mintavételi alap** egyetlen helyéről vett mintát **elemi mintának** nevezzük. Egy mintavételi alpból annak nagyságától függően több elemi minta is vehető; ilyen esetben az elemi minták egyesítésével nyerjük az **összesített** vagy **átlagmintát**. Az elemi vagy összesített minták csak egy részét küldjük el vizsgálatra, amit **laboratóriumi mintának** hívunk. Hivatalos mintavételkor – a felmerülő minőségi viták eldöntéséhez – **ellenmintát** veszünk, melynek összetétele és tulajdonságai a laboratóriumi mintáéval azonosak. A mintavétel jellege szerint lehet:

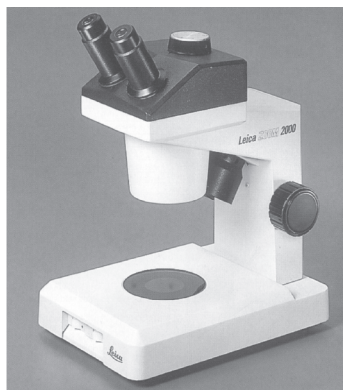
- **hivatalos mintavétel**, amelyet hatósági jogkörrel rendelkező, hivatalos személy végez a termék minőségének ellenőrzésére,
- **kereskedelmi mintavétel**, amikor az élelmiszer adásvételében érdekelt valamennyi fél, vagy az egyik fél és egy hivatalos személy van jelen a mintavételnél,

- **üzemi mintavétel**, amelyet a gyártó végez az élelmiszer minőségének megállapítása és folyamatos ellenőrzése céljából és
- **tájékoztató mintavétel**, amelyet a minőség tájékoztató jellegű megállapítása céljából vesznek.

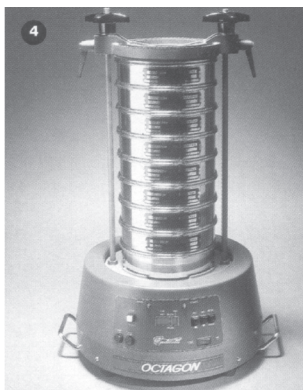
A mintavétel végrehajtását szabványok írják elő. Lényeges, hogy a laboratóriumi minta jól reprezentálja a mintavételi alap átlagos minőségét; minél koncentráltabb és minél homogénebb egy minta, annál kevesebb elemi minta szükséges a jó átlagminta kialakításához. A laboratóriumi minta legalább 500–600 g szárazanyagot tartalmazzon, ami még akkor is elegendő, ha nagyszámú komponens meghatározására kerül sor. Az egyes élelmiszer-féleségekből a következő mintamennyiségeket kell a laboratóriumba beküldeni:

- magvak és daráik, ipari eredetű alapanyagok, ipari keverékek, élelmiszer-kiegészítők, malomipari lisztek, darák: 1 kg,
- nyersanyagok, gyökér és gumós élelmiszer-alapanyagok: 2,5–3 kg,
- tej és tejtermékek, hús és húskészítmények: 7–8 kg.

A mintát úgy kell csomagolni, hogy annak szárazanyag-tartalma a laboratóriumba érkezéskor ne változzon, valamint meg kell akadályozni a minta romlásnak indulását. A mintát a lehető legrövidebb időn belül juttassuk el a laboratóriumba, különösen akkor, ha mikrobiológiai vizsgálatot is végeztetünk.



Sztereomikroszkóp



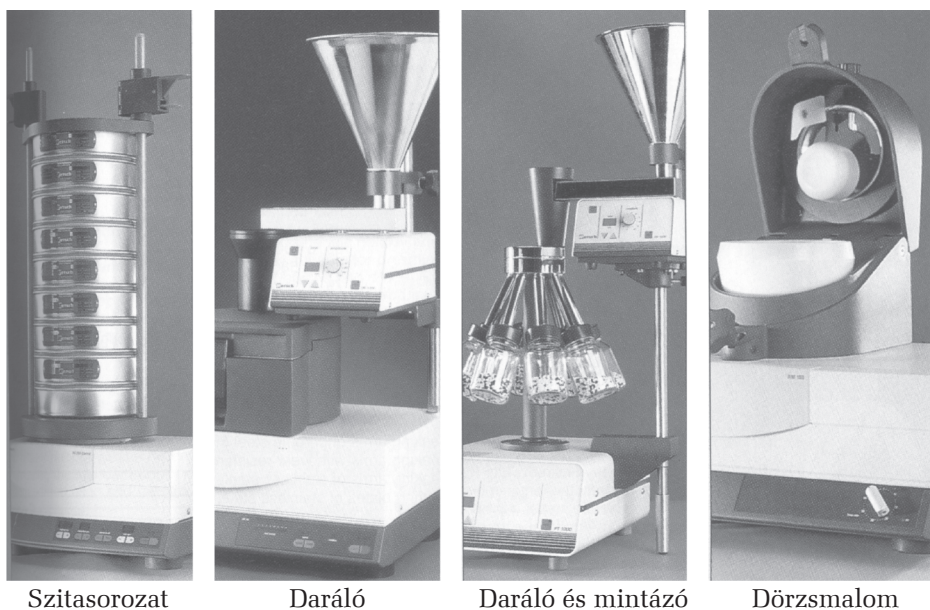
Szitasorozatok rázógéppel összekapcsolva



13. ábra. Laboratóriumi eszközök I.

A laboratóriumba beérkező mintát **érzékszervi bírálatnak** vetjük alá, amelynek során vizsgáljuk a külső megjelenést, a színt és a szagot, az egyneműséget, az aprítottságot, az egészségi állapotot, a szennyezettséget, ezen belül a gombafertőzöttséget, az állati kártevők, a por, a föld, a gombás fertőzöttség és az idegenanyag mennyiségét és arányát. (E vizsgálatokhoz segítségünkre lehet a 13. ábrán látható sztereomikroszkóp.) Szemestermények és egyéb magvak esetében vizsgáljuk

az egyneműséget, idegen magvak, a sérült, romlott, pörköldött, égett, penészes szemek előfordulását, a csutka, a léha, a toklász, a pelyva és a szárrészek jelenlétét, valamint a gyomnövények mennyiségét, különös tekintettel a mérgező vagy káros gyommagokra. Ipari keverékek esetén, a fentiekén túl, vizsgáljuk a fizikai megjelenési formát (finom őrlemény, dercés, pellet), az egész gabonaszemek jelenlétét, összeállt csomókat, raktári kártevőket és a minta száraz, nyirkos vagy vizes állapotát. (E vizsgálatokhoz segítségünkre lehetnek a különféle szitasorozatok, melyek segítségével a szemcseméret-eloszlás is meghatározható (13. ábra). A fentiekén túl meghatározzuk a vizsgált anyag színét és szagát. Az észlelt szag lehet a vizsgálati anyagra jellemző vagy dohos, penészes, erjedt, savanyú, befűledt, szúrós, avas, vajsavas, pörköldött, égett, idegen vagy jellegtelen.



14. ábra. Laboratóriumi eszközök II.

Szükség esetén koncentrátumok, ipari alapanyagok, valamint préselt és morzsázott termékek esetén elvégezhetjük a szemcseméret-meghatározást megfelelően kiválasztott szitasorozattal, majd kiszámíthatjuk a különböző frakciók százalékos mennyiségét.

A fenti vizsgálatokat követheti a mikroszkópos vizsgálat, mely egy külön tudományág, és amelynek tárgyalása nem tartozik a könyv feladatkörébe.

A minőség megállapítását célzó vizsgálatok közül elsőként a mikrobiológiai vizsgálatokat végezzük el, mert a vizsgálati anyag mikrobiológiai állapota folyamatosan változhat. Az élelmiszer mikrobiológiai állapota annak felhasználható-

ságát igen sokoldalúan befolyásolhatja, mert hatással van az élelmiszer értékére, felhasználhatóságára, a tárolhatóságra és a konzerválhatóságra. Az élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata is külön tudomány, aminek tárgya nem tartozik a könyv feladatkörébe.

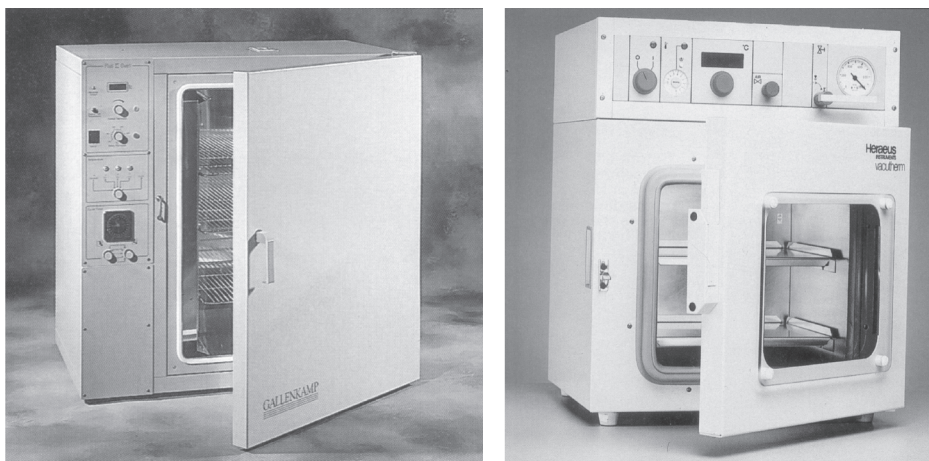
A különböző mintákat a vizsgálatokat megelőzően aprítani kell, melynek során különféle darálókat és homogenizátorokat használunk (14. ábra). A legtöbb vizsgálathoz elegendő, ha a minta 98%-a átesik a 0,2 mm lyukméretű szitán. A 15. ábrán különféle, laboratóriumban használatos darálók és homogenizátorok láthatók.



15. ábra. Különböző típusú darálók és homogenizátorok

3.1. Nedvességtartalom meghatározása

A nedvességtartalom meghatározásának leggyakrabban alkalmazott módja az, hogy a mintát 103 °C-on szárítószekrényben (16. ábra) a tömegállandóság eléréséig szárítjuk, majd a mért értékekből számítással határozzuk meg a szárazanyag-, illetve a nedvességtartalmat. A 14–20% víztartalmat meghaladó és emiatt nem darálható anyagokat két fázisban szárítjuk meg. Az előszárítás hőmérséklete 55–60 °C, amely után a mintát szobalevegőn hagyjuk kiegyenlítődni, lemérjük, ezt követően aprítjuk, és az újra bemért mintát 103 °C-on tömegállandóságig szárítjuk. Az élelmiszerek illékony anyagai a szárítás során elillanhatnak, ezért ezeket az anyagokat a nedves mintából kell meghatározni.



16. ábra. Szárítószekrény és vákuum-szárítószekrény

3.1.1. Nedvességtartalom meghatározása előszárítás nélkül

A homogenizált szilárd mintákból legalább 150 g-ot olyan méretűre darálunk, hogy 10%-nál több ne maradjon fenn az 1 mm lyukbőségű rostán. Ismételt homogenizálás után 2 g őrleményt mérünk be 1 mg-os pontossággal (m), majd egyenesen szétterítjük a szárítóedényben. Ezután 0,2 mg-os pontossággal lemérjük a szárítóedényt a fedelével és a 2 g mintával együtt (E), majd az edényt nyitott fedővel 103 °C-ra (± 2 °C) melegített szárítószekrénybe helyezzük, és 4 órán keresztül száradni hagyjuk. Szárítás után az edény fedelét zárjuk és exsikkátorban lehűtjük, majd 0,2 mg pontossággal lemérjük (Sz). A nedvességtartalmat a következő képlettel számítjuk ki és tömeg%-ban adjuk meg:

$$\text{nedvességtartalom \%} = \frac{E - Sz}{m} \cdot 100,$$

ahol: E = a minta és a szárítóedény tömege szárítás előtt,
 Sz = a minta és a szárítóedény tömege szárítás után,
 m = a szárításra bemért minta tömege g-ban.

A minta nedvességtartalmát két párhuzamos mérés középértékeként, egytizedes pontossággal adjuk meg. A meghatározás pontossága $\pm 0,6\%$.

3.1.2. A nedvességtartalom meghatározása előszárítással

Legalább 500 g nagy nedvességtartalmú mintát mérünk le táramérlegen 0,01 g pontossággal (e), és 60–70 °C-on tömegállandóságig szárítjuk. Ezt követően szobahőmérsékleten nyitott edényben 2 órán át hűlni hagyjuk, majd lemérjük (M). A lehűlt minta szárazanyag-tartalmát a 3.1.1. pontban leírtak szerint meghatá-

rozzuk, a nedvességtartalmat a következő képlettel számítjuk ki és tömeg%-ban fejezzük ki:

$$\text{nedvességtartalom \%} = 100 \cdot \left(1 - \frac{M \cdot sz}{e \cdot m}\right),$$

ahol: e = az első szárításra bemért minta tömege g-ban,
 M = az első szárításra bemért minta szárítás után g-ban,
 m = aprítás és őrlés után a 2. szárításhoz bemért minta tömege g-ban,
 sz = a 2. szárításra bemért minta tömege szárítás után g-ban.

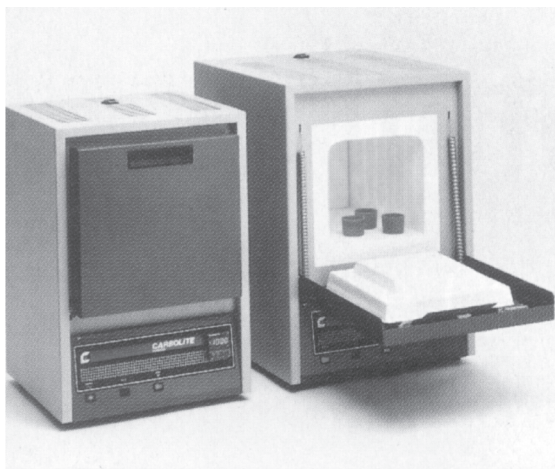
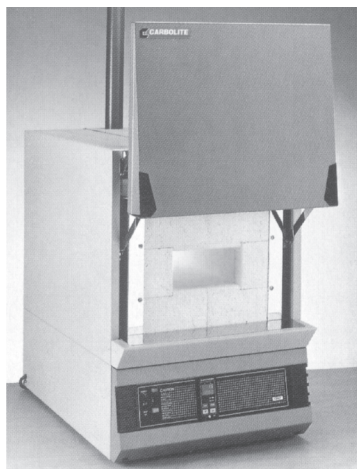
A minta nedvességtartalmát két párhuzamos vizsgálat középértékeként, egytizedes pontossággal adjuk meg.

3.2. Az ásványi alkotórészek meghatározása

3.2.1. A nyershamu és a sósavban oldhatatlan hamutartalom meghatározása

3.2.1.1. A nyershamutartalom meghatározása

A hamutartalom meghatározása céljából a mintát izzítótégelyben laboratóriumi főzőlapon, majd izzítókemencében 550 °C-on elhamvasztjuk addig, amíg a hamu fehér, illetve szürkésfehér nem lesz. Amennyiben a hamu sok ásványi anyagot (nehézfémeket) tartalmaz, akkor színe sötétszürke is lehet. Ha a hamu formában visszamaradó szervesetlen anyagok mennyiségét levonjuk a szárazanyag-tartalom-ból, akkor megkapjuk a szerves anyagok mennyiségét.



17. ábra. Különböző típusú izzítókemencék

Az eljárás menete a következő: mérjük be 5 g vizsgálati anyagot (m_o) 1 mg pontossággal, és tegyük be a már előzőleg legalább 30 percig 550 °C-on kiizzított, exsikkátorban lehűtött és 0,2 mg pontossággal lemerített hamvasztótégelybe (m_2). Helyezzük a mintát elektromos főzőlapra, és fokozatosan égessük el elszenesedéssé, ezt követően tegyük a tégelyt 550 °C-os hőmérsékletű izzítókemencébe (17. ábra), és ott három órán keresztül izzítva szénrészecskéktől mentes hamut kapunk. Ha további 1 órán keresztül izzítva még mindig előfordulnak szénrészecskék a hamuban, akkor hagyjuk lehűlni, és néhány csepp desztillált vízzel való nedvesítés után további egy órán át hamvasztjuk. Exsikkátorban való lehűlés után mérjük le a hamu és a tégely együttes tömegét 0,2 mg pontossággal (m_1). A nyershamutartalmat a következő képlettel számíthatjuk ki tömeg%-ban kifejezve:

$$\text{nyershamu \%} = \frac{m_1 - m_2}{m_o} \cdot 100,$$

ahol: m_o = a vizsgálatához bemért minta tömege (g),
 m_1 = a tégely és a minta tömege hamvasztás után (g),
 m_2 = a tégely tömege (g).

A nyershamutartalmat két párhuzamos mérés középértékeként, egytizedes pontossággal adjuk meg.

3.2.1.2. A sósavban oldhatatlan hamutartalom meghatározása

A sósavban oldhatatlan hamutartalom meghatározásakor a mintát elhamvasztjuk, a hamut sósavban forraljuk, az oldhatatlan maradékot szűrjük, szárítjuk, hamvasztjuk és lehűlés után mérjük. A vizsgálati eljárás a következő: miután az előzőekben leírtak szerint meghatároztuk az élelmiszer hamutartalmát, a hamut mossuk át 75 cm³ 3 M-os sósavval egy 400 cm³-es főzőpohárba, lassan forrásba hozzuk és 15 percig enyhén forraljuk. Hamumentes szűrőpapíron szűrjük a meleg oldatot, és meleg vízzel a maradékot kloridmentesre mossuk. Tegyük a szűrőpapírt tartalmával együtt a már előzőleg kiizzított, lehűtött és 0,2 mg pontossággal lemerített hamvasztótégelybe (m_2). Ezt követően először szárítjuk, majd kiizzítjuk 550 °C-on. Exsikkátorban való lehűlés után 0,2 mg pontossággal mérjük (m_1). A sósavban oldhatatlan hamutartalmat a következő képlet szerint számítjuk és tömeg%-ban fejezzük ki:

$$\text{sósavban oldhatatlan hamutartalom \%} = \frac{m_1 - m_2}{m_o} \cdot 100,$$

ahol: m_o = a vizsgálatra bemért minta tömege (g),
 m_1 = a tégely és a sósavban oldhatatlan hamu tömege (g),
 m_2 = a tégely tömege (g).

A sósavban oldhatatlan hamutartalmat két párhuzamos vizsgálat középértékeként, egytizedes pontossággal adjuk meg.

3.2.2. Az ásványi alkotórészek meghatározása spektroszkópai módszerekkel

Spektroszkópai módszereknek nevezzük az elektromágneses sugárzás és az anyag kölcsönhatásán alapuló analitikai eljárásokat. Két fő ága közül az **emissziós eljárás** a fénykibocsátáson, az **abszorpciós eljárás** pedig a fényelnyelésen alapszik. Mindkét eljárás alapja az a felismerés, amely szerint az atomok és molekulák elektronrendszerében az elektronoknak pontosan meghatározott energiaértékei vannak, aminek következtében energiafelvétel vagy -leadás csak meghatározott (diszkrét) energiamennyiségek formájában mehet végbe. Gerjesztés során az energiaközlés hatására egy elektron magasabb szintre kerül, amelyet követően – mivel a gerjesztett állapot instabil – az elektronok fölös energiájukat leadva alapállapotba jutnak (rekombináció). A gerjesztés és a rekombináció azonban csak akkor szolgáltat analitikai információt, ha az energialeadás fény formájában történik. Az emittált (kisugárzott) fény energiáját a következő képlet szerint számolhatjuk ki:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda},$$

ahol: h = Planck-féle állandó ($6,625 \cdot 10^{-34}$ J · s),
 ν = az emittált fény rezgésszáma (frekvenciája) (s^{-1}),
 λ = az emittált fény hullámhossza (nm),
 c = a fény terjedési sebessége ($3 \cdot 10^8$ m/s; 300 000 km/s).

Az energiaszintek közötti lehetséges elektronátmenetet ábrázolva kapjuk az ún. termdiagramot. A termdiagramon minden gerjesztési állapot közötti energia-különbségnek megfelel a fény jól megkülönböztethető hullámhossza. A legalsó szintnek megfelelő energiakülönbség adja az ún. alapvonalat, amely a kérdéses elemre a legjellemzőbb és a legintenzívebb. A fontosabb elemek alapvonalait a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat. *Néhány elem alapvonala*

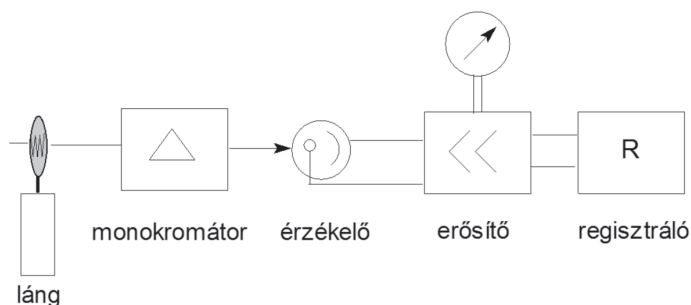
Nátrium	589,0 és 589,6 nm
Kálium	766,5 nm
Kalcium	422,7 nm
Magnézium	285,2 nm
Réz	324,7 nm
Cink	213,9 nm
Vas	248,3 nm
Mangán	279,5 nm

A molekulák esetében az elektronok energiaállapotai mellett módosulnak a forgási és rezgési energiák is, azonban ezek energiái az elektronok energiájához képest nagyságrendekkel kisebbek. Az elektromágneses spektrum optikai tartománya az, amit a makro- és mikroelemek mennyiségének meghatározására fel tudunk használni. **A kibocsátott vagy az elnyelt fény hullámhossz szerinti felbontása után nyerjük a színeképet**, amelynek értékelésével a színeképelemzés foglalkozik. Vonalas színeképet kapunk atomos gázok vagy gőzök gerjesztése esetében, sávos színeképet molekulák gerjesztésekor, folytonos színeképet adnak az izzó, szilárd testek vagy folyadékok. **Atomokat – mivel a fény emittálására és abszorbeálására is képesek – emisszióban és abszorpcióban is vizsgálhatunk, molekulákat viszont (mivel a gerjesztés során legtöbbször elbomlanak) abszorpciós módszerekkel tudunk analizálni.**

3.2.2.1. Emissziós színeképelemzés

3.2.2.1.1. Lángfotometria

A lángfotometria a lángban történő gerjesztéssel végzett mennyiségi színeképelemzés. Az eljárás során a mintát lángba porlasztjuk, majd az emittált fény erősségét spektrális felbontás után közvetlenül mérjük. A lángba beporlasztott anyagból az oldószer elpárolog, majd a gőzállapotban lévő fémsó termikusan disszociál. A kapott szabad atomok és gyökök, esetleg molekulák gerjesztődnek, egy részük ionizálódik. A lángba jutó részecskék elpárolgását és disszociációját elősegíti a magas hőmérséklet, a kis mennyiségű anyag adagolása és a viszonylag hosszú idejű lángban való tartózkodása. Gáz halmazállapotban egyensúly áll be a molekulák, az atomok és az elektronok között. **Az eljárás során a gerjesztődött atomok által kisugárzott fény intenzitását mérjük.** A lángfotométer elvi felépítését a 18. ábra mutatja.



18. ábra. A lángfotométer elvi felépítése

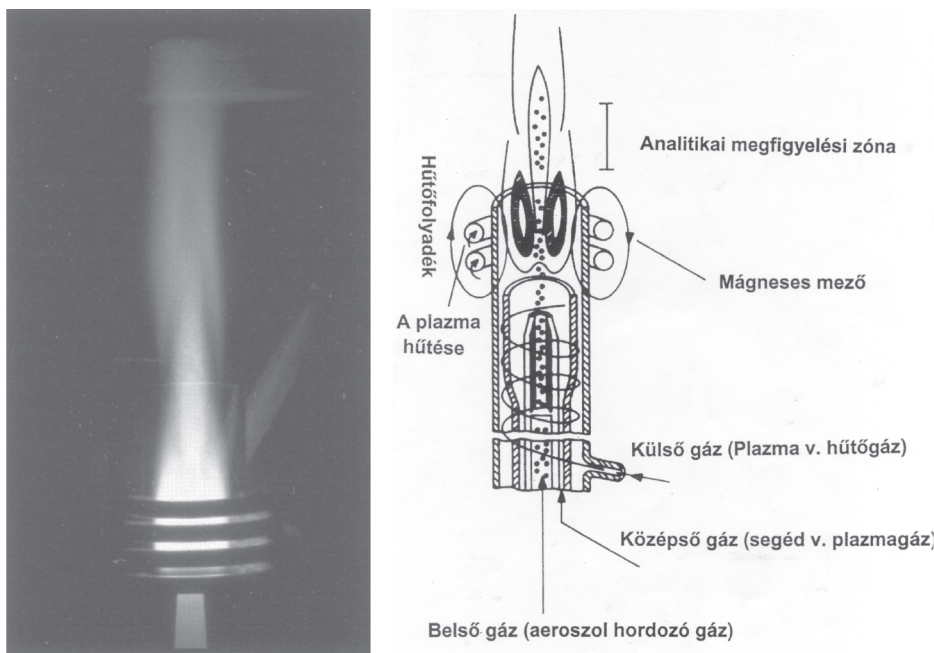
A folyamat menete összefoglalva a következő: az oldószer (ami legtöbbször víz) elpárolgása, szilárd köd keletkezése, párologás, disszociáció, gerjesztődés és emisszió. **Az emittált fény különböző lencséken, prizmákon keresztül jut**

va színképvonalakat hoz létre, amelyek közül kiválasztjuk a mérendő elem alapvonalát. Ennek intenzitása arányos a koncentrációval, tehát e módszerrel minőségi és mennyiségi analízist is tudunk végezni. Ha pl. a színképben azonosítani tudjuk az 589,6 nm-es hullámhosszú vonalat, ez azt jelenti, hogy a mintában volt nátrium, mert ez a hullámhossz kizárólag a nátriumatomok $3p \rightarrow 3s$ elektronátmenetének megfelelő sugárzás hullámhossza. Amennyiben több elemet akarunk a mintából meghatározni, mindig ki kell választani a mérendő elem alapvonalának megfelelő karakterisztikus hullámhosszt. A lángfotometria az 5 eV-nál kisebb gerjesztési energiájú elemek mennyiségi meghatározását teszi lehetővé, hisz a levegő-acetilén vagy a levegő-propánbután gáz hőmérséklete nem elegendő a nagyobb gerjesztési hullámú elemek magasabb energiaszintre történő kerüléséhez.

A lángfotometriát sok környezeti hatás zavarja. Az érzékenységet rontja a gerjesztés mellett végbemenő nagyfokú ionizáció, és zavarólag hathat az önabszorpció is (amikor a láng magasabb hőmérsékletű belső részein kibocsátott sugárzást a láng külső, hidegebb részén lévő atomok elnyelik), amelynek során csökken a karakterisztikus hullámhosszú fénysugár intenzitása. A fentiekben túl zavarhatják a meghatározást a mátrixhatás következtében olyan oxigéntartalmú anionok, mint a szilikát vagy foszfát; a szerves anyagok hidroxil- és cianidcsoportok jelenlétében pedig folytonos háttérsugárzást adnak, amelyek a mérési eredményeket megzavarhatják.

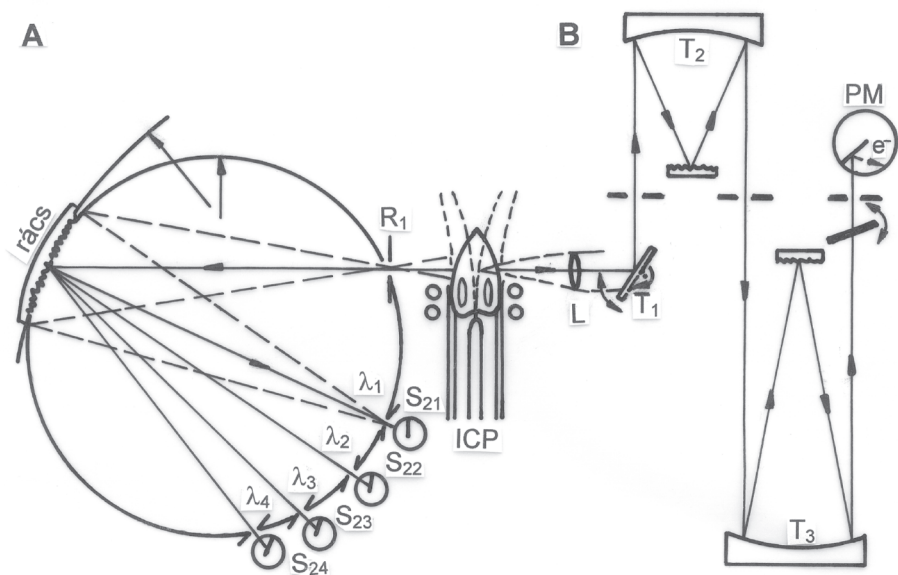
3.2.2.1.2. Plazmaemisszió

Az induktív csatolású plazma (ICP) két-három menetből álló tekercsbe vezetett nagyfrekvenciás árammal, legtöbbször argonatmoszférában létesített plazmát jelent, amelynek hőmérséklete 6000–8000 K (19. ábra). A mérendő elem oldatát az ICP-méréstechnika során perisztaltikus pumpával juttatjuk be a ködkamrába, ahonnan a vivőgázzal porlasztva jut a plazmaégőbe. A plazmagáz a vízhűtött nagyfrekvenciás tekercs belsejében ionizálódik, aminek következtében a tekercs belsejében az elektronszám rendkívüli módon megnövekszik, az elektronok mozgási energiája akkorára nő, hogy az argonatomokkal ütközve azokról elektronokat szakít le. **A nagyfrekvenciás plazmában történő mérés rendkívüli előnye, hogy gyakorlatilag nem kell a mátrixhatással számolni,** és a lángfotometriánál fennálló zavaró körülmények is minimálisak. A kis gerjesztési energiájú alkálifémek a nagyméretű ionizáció miatt viszont nem vagy csak nehezen mérhetők ICP-vel. A módszer érzékenysége rendkívül nagy, kedvező esetben elérheti a néhány század $\mu\text{g/kg}$ -ot is. A plazma egyidejűleg sugározza a mintában lévő valamennyi elem karakterisztikus vonalait, így megfelelő berendezéssel plazmaemissziós spektrométerrel 20–40 elem mérhető egyidejűleg (21. ábra).



19. ábra. A plazma és szerkezete

A kisugárzott fény mérése történhet monokromátoros vagy polikromátoros elrendezésben. A monokromátorba jutott fényből tükrök és rácsok segítségével kiválasztjuk a kívánt hullámhosszúságú fényt, amelynek intenzitását valamilyen fénymérő berendezésben mérjük. A berendezés segítségével a plazmát elhagyó spektrumból tehát kiválasztjuk a keresett hullámhosszt, azaz a fényt monokromatikussá tesszük. A polikromátoros berendezésben a belépőre érkező fényt az optikai rács – a prizmaéhoz hasonlóan csak annál nagyobb felbontásban – összetevőire bontja, amelyek intenzitását egy fotomultiplayernek nevezett berendezés méri. A polikromátoros elrendezés segítségével számítógépes értékeléssel pár cm^3 mintából 40–50 elem minőségi és mennyiségi analízise végezhető el fél perc alatt (20., 21. ábra).



20. ábra. A kisugárzott fény mérése polikromátoros (A) és monokromátoros (B) elrendezésben

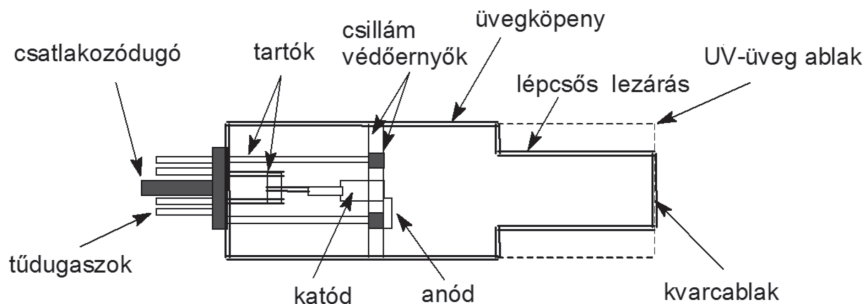


21. ábra. Egy Perkin Elmer indukciós csatolású plazmaemissziós fotométer (ICP)

3.2.2.2. Abszorpció színeképelemzés

3.2.2.2.1. Atomabszorpciós fotometria

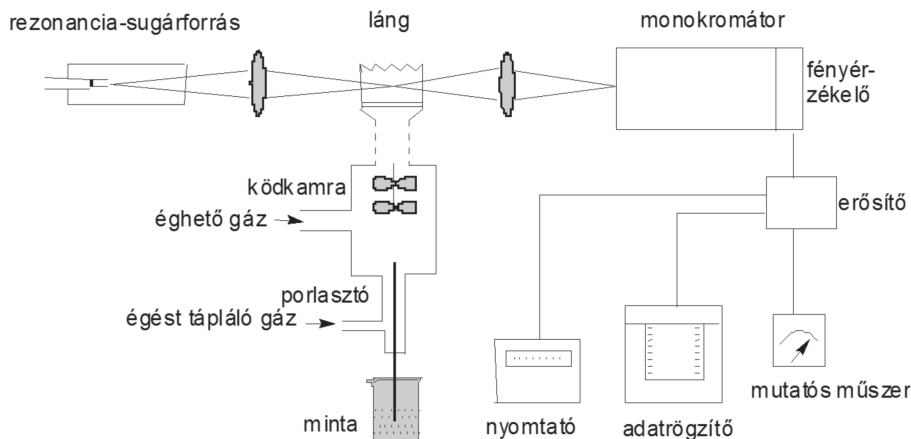
Az abszorpciós színeképelemzés az atomok és vegyületek fényelnyelésének mérésén alapuló analitikai módszer, amelynek alapja, hogy a különböző atomok és vegyületek az összetett fény más és más hullámhosszúságú sugarait abszorbeálják. A fényabszorpció az atomokra és vegyületekre nézve szelektív, tehát az anyag minőségére ad információt; a fényelnyelés mértéke pedig az anyag koncentrációjával arányos, ezért az abszorpció mértékéből a vizsgálandó anyag mennyiségére is következtetni lehet. Az abszorpciós mérések közül **az atomabszorpciót elsősorban fémek kis mennyiségének pontos meghatározására alkalmazzák**; szinte minden élelmiszer szempontjából fontos fém- és nehézfémnyom meghatározható ezzel a technikával. **Az atomabszorpció olyan analitikai módszer, amely a gázhalmazállapotú atomok fényelnyelését méri, az atomok ugyanis képesek mindazon hullámhosszúságú fény elnyelésére, amelyet önmaguk is ki tudnak bocsátani.** A szabad atomok csak a rájuk jellemző hullámhosszú fényt képesek abszorbeálni, azt, amely a megfelelő elektronátmenethez szükséges, ezért ha egyetlen hullámhosszú sugárzást bocsátunk át az atomgőzön, akkor ezt csak egyetlen elem atomjai képesek elnyelni.



22. ábra. A vájtkatód lámpa felépítése

A karakterisztikus sugárzás előállítására az ún. vájtkatódlámpák (22. ábra) alkalmasak, amelyeknek henger formájú üreges katódja a mérendő elemből készül. A vájtkatódlámpa valójában egy kis nyomáson működő kisülési cső, amely csakis a katódfém alapvonalát sugározza igen nagy intenzitással. Kis áramerősséget átbocsátva a katódra, arról fématomok kerülnek a gáztérbe, amelyek ott ütközéssel gerjesztődnek, majd ismét alapállapotba jutva, az elektronátmenetnek megfelelő fényt kisugározzák. **A kisugárzott fényt átbocsátják a mérendő elemet tartalmazó atomos gőzökön, amelyek közül csak a mérendő atomok képesek ezt a fényt abszorbeálni, hisz ez ezek alapvonalát gerjeszti.**

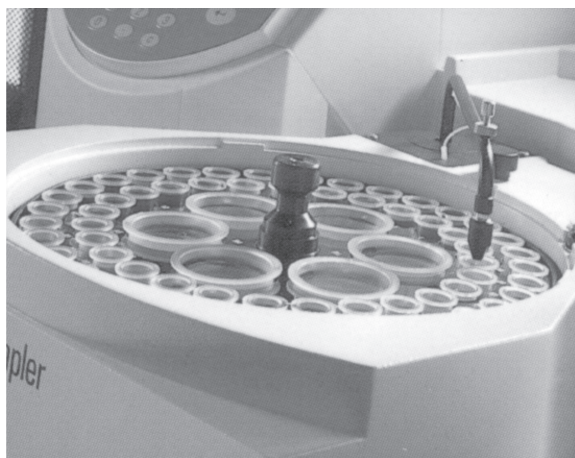
Így pl. a magnéziumlámpa csak a 285,2 nm-es hullámhosszú sugárzást bocsátja ki, amelyet csak a magnéziumatomok képesek abszorbeálni. **A fényelnyelés mértéke arányos a meghatározandó atomok számával, azok koncentrációjával.** A módszer szelektív és nagy érzékenységű, kellő számú vájtkaód lámpával gyakorlatilag 30–60 fémes elem egymást követő meghatározását teszi lehetővé. Az atomos gőzök előállítására szempontjából kétfajta eljárás ismeretes: **atomizáció lángban** és **elektrotermikus** vagy más elnevezéssel **grafitküvetés atomizáció**.



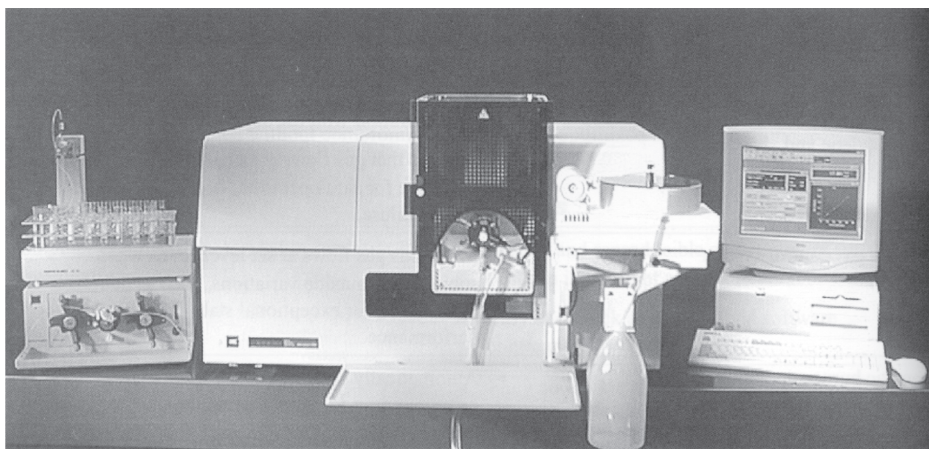
23. ábra. Az atomabszorpciós fotométer felépítése

Az atomos gőzök lángba juttatása a lángfotometriához hasonlóan történik, aminek során a mérendő anyagot a levegő a ködkamrába juttatja, amely ott az éghető gázzal keveredik, és együttesen viszik tovább a lángig. A lángban megtörténik a vájtkaód lámpa által kisugárzott fény abszorpciója, amelynek mértékét a fényérzékelő méri. Az érzékelő a jelet kijelzi a nyomtatóba, vagy az adattároló komputerhez juttatja el (23., 24., 25. ábra).

A lángot leggyakrabban az acetilén levegőben vagy az acetilén dinitrogén-oxidban történő égetésével állítják elő. A dinitrogén-oxid–acetilén láng magasabb hőmérsékletű, kevesebb benne a zavaró hatás, jelentősebb viszont az ionizáció. E lángot a nagyobb gerjesztési energiával rendelkező elemek meghatározásánál használják. Az atomabszorpciós méréssel egy elem meghatározása egy mintából 5–10 másodpercig tart, ezért a módszer alkalmas nagyszámú minta gyors mennyiségi analizisére. A módszerrel a jól mérhető elemekre a kimutatósi határ 0,01 mg/kg.

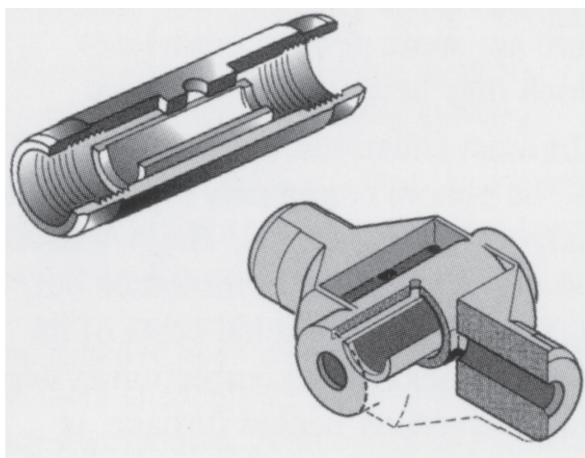


24. ábra. Automatikus mintaadaló



25. ábra. Egy Perkin Elmer atomabszorpciós spektrofotométer

A grafítküveltás atomizálásakor nemesgáz atmoszférában tartott, elektromos árammal felmelegített grafítküveltát használunk, amelyen keresztülhalad a vajtkatódlámpa által kibocsátott sugárzás. A nagy ellenállású grafítküveltát (26. ábra) kis feszültségű (10 V) és nagy áramerősségű (80–100 A) árammal felmelegítjük, amelynek során be tudjuk állítani a pontos hőmérsékletet, ami lehetővé teszi az optimális mérési paraméterek kialakítását. A meghatározás során elsőként az oldószert párologtatjuk el, az ezt követő előkezelés során a szennyező- és zavaróanyagok eltávolítása következik, majd végül az atomizáció során a mérendő elem atomos gőzének előállításával elvégezzük a tényleges mérést.



26. ábra. Grafitküvetta

Az elektrotermikus atomizálás rendkívüli előnye, hogy az elemek egyedi fűtési programja segítségével a zavaró hatások nagyrészt kiküszöbölhetők. A módszer érzékenyebb és pontosabb, mint a láng esetében, hátránya viszont, hogy lassabb és drágább. A grafitküvetta mérés technikával a mérendő elemek kimutatási határa $1 \mu\text{g/kg}$.

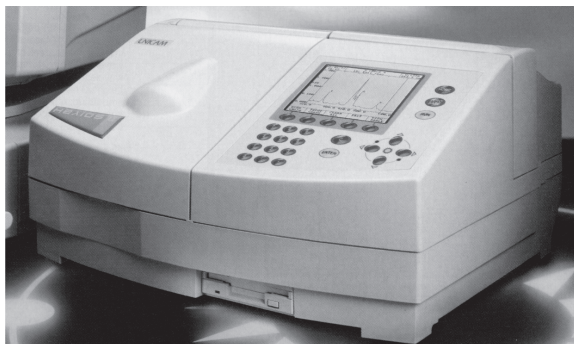
3.2.2.2.2. Ultraibolya és látható abszorpciós fotometria

A vegyületek kémiai kötéseit gerjesztéséhez az ultraibolya és a látható színek tartomány energiája elégséges. A σ -kötést a 180 nm -nél kisebb hullámhosszú, a π -kötést pedig a 180 nm -nél nagyobb hullámhosszú fény gerjeszti, amiből az is következik, hogy a módszer leginkább a különféle szerves vegyületek meghatározására alkalmazható. **A hullámhossz függvényében felvett fényelnyelés mértéke adja az abszorpciós spektrumot vagy színeképet**, amelyben az egyes kötéstípusokhoz jellegzetes elnyelési tartományok rendelhetők, amelyek alapján a vegyületek azonosíthatók. A különböző vegyületek spektruma egymástól annyira különbözik, hogy a különbség alapján a vegyületek egymástól elválaszthatók. A meghatározás során a spektrumok felvételét nem abszorbeáló oldószerben feloldott anyagokkal végezzük úgy, hogy a mintaoldat elnyelését az oldószerhez mint vakértékhez hasonlítjuk. A leggyakrabban használt oldószerek a víz, az alkohol, a hexán és a benzol. **A vegyület fényelnyelése során mért intenzitáscsökkenés logaritmus arányos a mérendő elem koncentrációjával**, amit abszorbanciának hívunk. A Lambert-Beer-törvény alapján az abszorbancia a következő képlettel fejezhető ki:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

ahol: I_0 = a belépő fény intenzitása,
 I = a mintaoldatot elhagyó fény intenzitása,
 l = a fény útja az oldószerben,
 c = koncentráció, (mol/dm³),
 ε = a moláris abszorpciós koefficiens.

A fenti képlet segítségével, **ha megmérjük az abszorpciót, a koncentráció számolható.** Az abszorbancia mérésére olyan fotométereket használunk, amelyen a mérendő vegyület abszorpciós maximumának megfelelő hullámhossz beállítható (27. ábra). Erre azért van szükség, mert az abszorpciós maximumon a legérzékenyebb a mérés.



27. ábra. Látható és ultraibolya tartományban működő fotométer

Az ultraibolya tartományban végzett mérés, az UV-spektroszkópia, szerves vegyületek beazonosítására és mennyiségi meghatározására is alkalmazható.

3.2.2.3. Infravörös spektroszkópia

Az infravörös spektroszkópiát az utóbbi időben kiterjedten használják élelmiszerek fehérje-, zsír-, szénhidrát- és nedvességtartalmának meghatározására. A módszerek pontossága talán még nem éri el a klasszikus és jól bevált módszerekét, azonban a minta-előkészítés és a mérés kivitelezésének egyszerűsége miatt az ilyen típusú módszerek elterjedése várható a gyakorlatban. **Az infravörös spektroszkópia a molekulák rezgési és forgási állapotában bekövetkező változásokat méri,** hisz ezek is a kvantumfeltételek által meghatározottak, ezért információt nyújtanak a szerkezetre. A rezgési energia változásait az infravörös fény elnyelése okozza, melynek hullámhossztartománya 2500–15000 nm között van (28., 29. ábra). Az infravörös spektroszkópia azonban praktikus okokból nem a

hullámhosszal, hanem a hullámszámmal dolgozik, ami a centiméterben kifejezett hullámhossz reciproka, ami az infravörös tartományra $600\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$.

A rezgési színekép a molekulán belüli atomok vagy atomcsoportok egymáshoz viszonyított rezgésének eredménye, melyek normál-, illetve csoportrezgések lehetnek. A **normálrezgés** lehet **vegyértékrezgés**, ami a két atom vegyértékkötése irányában történik, **deformációs rezgés**, amely a vegyértékszög változásaival jár, és **vázrezgés**, amely az egész vázra kiterjed. A csoportrezgések meghatározott funkciós csoportok rezgései, amelyek a szerves vegyületeknél leggyakrabban az alábbiak lehetnek cm^{-1} -ben kifejezve:

alkén ($1640\text{--}1670$)

karbonsav ($1700\text{--}1725$)

alkin ($2100\text{--}2200$)

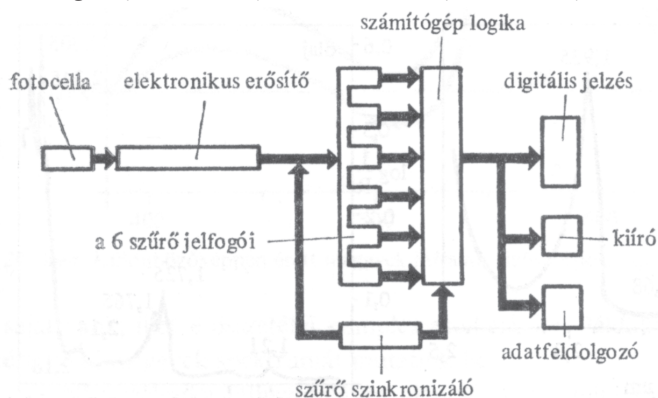
aromás szénhidrogén ($3000\text{--}3100$)

keton ($1700\text{--}1720$)

észter ($1720\text{--}1750$)

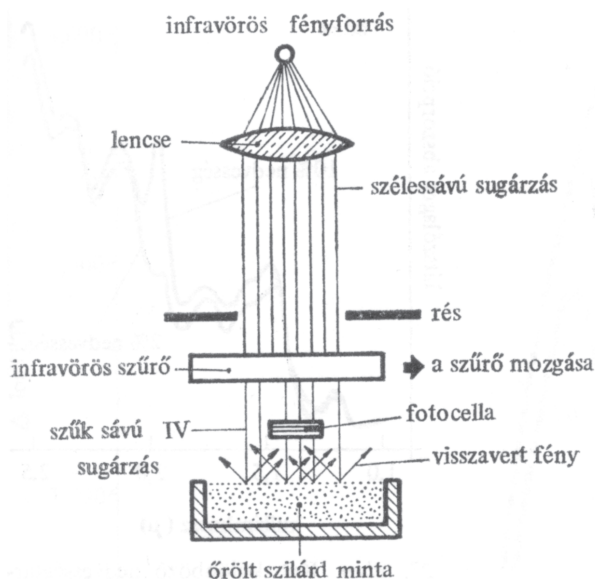
alkán szénhidrogén ($2900\text{--}3000$)

alkohol ($3100\text{--}3400$)



28. ábra. Az infravörös sugárzás alapján mérő készülék elvi felépítése

Az infravörös spektrum felvételéhez a szilárd anyagot alkáli-halogenidekkel (NaCl, KBr) porrá őrölve pasztillákba préselik, folyadékok esetében pedig két nátrium-klorid ablak között vékony filmet képeznek. Az említett alkáli-halogenideknek nincs infravörös abszorpciójuk. Ezt követően **felveszik az infravörös spektrumot a $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományban**, majd azonosítják a mérendő vegyületet a hullámszámokhoz rendelhető funkciós csoportok megállapításával. A funkciós csoportok számának és helyzetének spektrumból történő megállapítása után összeállítható az ismeretlen molekula szerkezeti képlete. Az infravörös spektroszkópia tehát használható ismeretlen szerves anyagok molekulaszervezetének megállapítására és a funkciós csoportok alapján élelmiszerek összetételének meghatározására.



29. ábra. Az élelmiszer összetételének meghatározása az infravörös sugárzás reflexiója alapján

3.2.2.4. Válogatott fejezetek

3.2.2.4.1. Az ember ásványianyag-ellátottságának vizsgálata

Az energia- és fehérjetartalom mellett az élelmiszer-receptúrák összeállításánál esetenként figyelemmel kell lenni az ember korcsoport, nem és fiziológiás állapot szerinti makro- és mikroelem-ellátottságának biztosítására. Az ásványianyag-hiány fiziológiai, súlyosabb esetben anatómiai rendellenességekhez vezethet, és súlyosan károsíthatja az ember egészségét.

Az ember ásványianyag-ellátottságáról a **haj- és véranalízis** útján tájékozódhatunk, hisz a pigmentált hajban és a vérben lévő elemek jól jelzik a szervezet ásványianyag-ellátottságát. A vér- és hajanalízis közötti különbség az, hogy a vérben lévő mikroelem-szint csak a mintavétel időpontjában, illetve azt a néhány nappal megelőző intervallumban fennálló ásványianyag-ellátottsági szintet tükrözi; a hajban meghatározott értékek viszont a haj növekedésének idejére nyújtanak információt. A véranalízis tehát a pillanatnyi viszonyokra, a hajanalízis pedig egy hosszabb időtartamra ad információt az ásványianyag-ellátottságról. A vér ásványianyag-tartalmát a szervezet saját tartalékaiból ásványianyag-hiányos ellátottság esetén is igyekszik fenntartani, így a vérből meghatározott koncentrációk csak a szervezet ásványianyag-ellátottságának viszonylag nagy ingadozásait követik. A fentiek miatt többen a hajanalízist részesítik előnyben a véranalízissel szemben.

Csak a pigmentált haj alkalmas az ásványianyag-ellátottság vizsgálatára, és az is lényeges, hogy a haját semmiféle kozmetikummal ne kezeljék. A hajban lévő ásványi anyagok mennyiségét befolyásolja a haj színe (a sötétebb színű haj általában több ásványi anyagot tartalmaz), a haj fajtája, az évszak, a biológiai állapot és a kor.

A hajanalízis menete a következő: megfelelően megtisztított hajból elektromos nyírógéppel mintegy 50–100 g mintát veszünk. Desztillált vízzel mossuk, szárítjuk, melynek során távoznak a haját szennyező szerves anyagok, majd petroléterben ismételtelen mossuk, szárítjuk, ekkor távoznak a szerves szennyeződések is. A tisztított mintát a mérendő elemek fajtájától függően 450–550 °C-on hamvasztjuk, meghatározzuk hamutartalmát, majd a hamut híg salétromsavban feloldjuk. Az oldatból a kálium- és nátriumtartalmat lángfotometriával, a kalcium-, magnézium-, vas-, mangán-, cink-, réz- és kobalttartalmat atomabszorpciós méréstechnikával, az acetilén-lángban atomabszorpcióval nem mérhető fémeket induktív csatolású plazmaemisszióval, a foszfort pedig foszfo-vanado-molibdát formában spektrofotometriásan határozzuk meg.

A haj mangán- és foszfortartalmának meghatározása. A mosással megtisztított haj öt g-ját elektromos kemencében elhamvasztjuk, melynek során a hamvasztás kezdetén a kemence hőmérsékletét óránként 50 °C-kal emeljük, majd 450 °C-on egy éjszakán át hamvasztjuk. A haj hamutartalmát 0,1 mg pontossággal lemérjük, majd hozzáadunk 5 cm³ 5 M-os salétromsavoldatot, és a hamut enyhe rázogatással feloldjuk, majd 20 cm³ desztillált vizet adunk hozzá. Az oldatot szűrőpapíron egy 50 cm³-es mérőlombikba szűrjük, jelre töltjük, és ebből az oldatból megfelelő hígítás után atomabszorpciós módszerrel határozzuk meg a mangánt 297,5 nm-en. A mennyiségi meghatározáshoz olyan kalibrálóoldatokat használunk, amely a mangánt a hajban várható koncentráció körül tartalmazza.

A foszfortartalom meghatározása során az 50 cm³-es mérőlombikban lévő törzsoldatot kétszeresére hígítjuk, melynek során 5 cm³ törzsoldathoz hozzáadunk 1 cm³ színeképző (molibdo-vanadát) reagenst, majd 4 cm³ vizet hozzáadva jól összerázzuk. A kapott sárga színű oldatot 460 nm-en 1 cm-es küvetében vakoldattal szemben fotometráljuk. A mennyiségi meghatározáshoz olyan foszfortartalmú kalibrálóoldatokat használunk, amelyben a foszfor koncentrációja a haj várható foszfortartalma körül van. A haj tényleges mangán- és foszfortartalmának kiszámításakor figyelemmel kell lenni a haj pontos bemérésére és az analízis során elvégzett hígításokra.

3.2.2.4.2. A tehéntej ásványianyag-tartalma és annak megváltozása a tőgygyulladás következtében

A tőgygyulladás hatására a tehéntej összetétele lényegesen megváltozik a normális tej összetételéhez képest. Az összetételében megváltozott tej ipari és táplálkozásbiológiai értéke lényegesen kisebb a normális tejénél, mert csökken a gyul-

ladásos tögyből származó tej hőstabilitása, erjedőképessége, pufferkapacitása, a belőle készült alvadék szilárdsága és savóleadó képessége, megnyúlik az oltós alvadási ideje, nagyobb lesz a *reduktáz*, *proteináz* és *lipáz* aktivitása, valamint a szabad zsírsavak mennyisége. Kisebb lesz a tej zsír- és fehérjetartalma, megváltozik a fehérjefrakciók mennyisége és aránya, csökken a vitamin (különösen az A- és C-vitamin) tartalma. A tej kazeintartalmának csökkenésével kevesebb lesz az ún. sajtkitermelési százalék, nő a savó zsír- és fehérjetartalma. A masztitiszes tej részarányának meghatározására különböző istállópróbák (*kataláz*-próba, brómtimol-próba, white-side-próba, mastitest-próba vagy CMT-próba) terjedtek el. Ezek a próbák a tej kémhatásának megváltozásán, illetve a tej megemelkedett sejttartalmának kimutatásán alapulnak. Jelentős mértékben megváltozik a tej laktóz- és ásványianyag-tartalma is tőgygyulladás hatására. A laktóztartalom 4,9%-ról 3,3%-ra, a káliumtartalom 1300 mg/kg-ról 600–700 mg/kg-ra csökken, a nátriumtartalom 400 mg/kg-ról 1500 mg/kg-ra, a kloridion-tartalom 1000 mg/kg-ról 1700–1800 mg/kg-ra nő – a mastitest-próba alapján – +++ és ++++ keresztes tejben a negatív tejhez képest. Hasonló, bár talán nem ennyire szembeötlő változások történnek a többi makro- és mikroelem-tartalomban is, azaz az egészséges tőgyből származó tej több szárazanyagot, laktózt, káliumot, foszfort, cinket és rezet, ezzel szemben kevesebb nátriumot, kloridot, kalciumot, vasat és mangánt tartalmaz.

Az előzőekből nyilvánvaló, hogy ha az ásványianyag-tartalom alapján akarjuk a tőgygyulladást kimutatni, akkor a kloridion-tartalomra, a nátrium- és káliumtartalomra kell koncentrálnunk, esetleg az összes makro- és mikroelemet bevonhatjuk az értékelésbe.

3.2.2.4.2.1. A kloridion-tartalom meghatározása

A tehéntej tőgygyulladás hatására megnövekedett kloridion-tartalmát egyrészt Volhard szerint, másrészt potenciometriásan, kloridion-szelektív elektróddal is meg lehet határozni.

Volhard szerint vizsgálva a kloridion-tartalmat meghatározott mennyiségű tejhez ismert mennyiségű ezüst-nitrát-oldatot adunk, és Fe(III)-ammónium-szulfát indikátor jelenlétében az ezüst-nitrát-felesleget ammónium-rodanid mérőoldattal visszatitráljuk. A módszert a 2.4.1. fejezetben korábban már ismertettük. A tej kloridion-tartalmát 100 cm³ tejre vonatkoztatva g-ban az alábbi képlettel számolhatjuk ki:

$$c = \frac{(a - b) \cdot 0,00355 \cdot 100}{m},$$

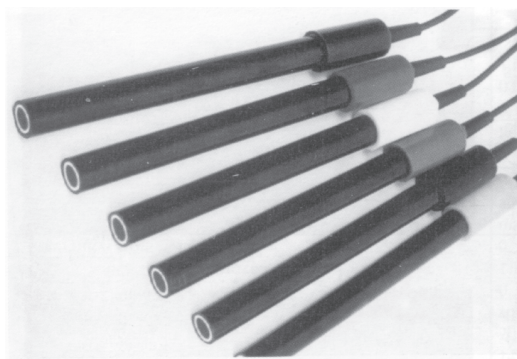
ahol: a = a 10 cm³ tejhez adott 0,1 mol/dm³ koncentrációjú AgNO₃-oldat mennyisége (cm³),

b = a titráláskor fogyott 0,1 mol/dm³ koncentrációjú ammónium-rodanid-oldat mennyisége (cm³),

m = a bemért tej mennyisége (cm³),

0,00355 = kloridion-egyenérték (g).

A tej kloridion-tartalmának meghatározását **potenciometriásan**, kloridion-szelektív elektróddal is elvégezhetjük (30. ábra). A meghatározáshoz szükséges egy potenciométer vagy pH-mérő készülék, egy kloridion-szelektív membránelektród és egy vonatkoztatási kalomelektród. A vizsgálat során egy 100 cm³-es főzőpohárban 10 cm³ tejet 90 cm³ desztillált vízzel elegyítünk, az oldatot 2–3 percig kevertetjük, majd kloridion-szelektív- és vonatkoztatási elektród segítségével leolvassuk az elektródpotenciált (E). A meghatározáskor ismert kloridion-koncentrációjú oldatokkal elkészítjük a kalibráló egyenest, amelynek segítségével a leolvasott elektródpotenciál-értékekből felvett lg[Cl⁻]-E függvény alapján a minta kloridion-koncentrációja meghatározható. A kapott értékeket a hígítással megszorozva megkapjuk a tej kloridion-tartalmát.



30. ábra. Különféle típusú ionszelektív elektródák

3.2.2.4.2.2. A nátriumtartalom meghatározása

A tej megnövekedett nátriumtartalmát lángfotometriásan, illetve ionszelektív membránelektród segítségével is meghatározhatjuk. A lángfotometriás meghatározás során a vizsgálandó tejmintát beszárítjuk, majd elhamvasztjuk. A hamut híg salétromsavban feloldjuk, és az oldat megfelelő hígítása után a nátriumion-koncentrációt lángfotometriásan mérjük. A lángfotometriás mérés hullámhossza 598 nm. A tejből készült oldat intenzitásértékeit megfelelő koncentrációjú kalibrálóoldatok intenzitásértékeihez viszonyítjuk. A kalibrálóoldatok intenzitásértékeiből kalibráló egyenest készítünk, amelynek segítségével az ismeretlen nátriumion-koncentráció meghatározható.

A tej nátriumtartalmát meghatározhatjuk ionszelektív membránelektród segítségével is, amely eljáráshoz szükségünk van egy potenciométerre vagy pH-mérő készülékre, a nátriumion-szelektív membránelektródra és egy vonatkoztatási kalomelektródra. A vizsgálati eljárás során a kloridtartalomnál leírtakhoz hasonló módon járunk el, azzal a különbséggel, hogy nátriumion-szelektív membránelektróddal mérjük meg a tej elektródpotenciálját. Ezt követően ismert nátriumion-koncentrációjú oldatokkal kalibráló egyenest készítünk; az elektród-

potenciál-értékeket a nátriumion-koncentráció logaritmusának függvényében ábrázoljuk, majd az így kapott kalibrálóegyenes segítségével meghatározható a nátriumion-koncentráció.

3.2.2.4.2.3. A tej ásványi alkotórészeinek meghatározása

A tej és tejtermékek kálium- és nátriumtartalmát lángfotometriával vagy ionszelektív membránelektóddal, kloridion-tartalmát klasszikus módszerekkel vagy potenciometriásan, kalcium-, magnézium-, cink-, réz-, vas-, mangán-, kobalt-, nikkel-, ólom-, kadmium-, arzén-, ón-... tartalmát pedig atomabszorpciós spektrofotométerrel, illetve induktív csatolású plazmaemissziós fotométerrel határozzuk meg. A vizsgálat során a tejből 50 cm³-t mérünk be 1 mg-os pontossággal porcelán vagy kvarc hamvasztótégelybe, majd a tégely tartalmát 103 °C (±2 °C) hőmérsékletű szárítószekrényben tömegállandóságig szárítjuk. Ezt követően izótókecencében annak hőmérsékletét óránként 30 °C-kal emelve 450 °C-on elhamvasztjuk, a lehűlt hamuhoz 10 cm³ 5 M-os HNO₃-oldatot adunk, majd 50 cm³-es mérőlombikba szűrjük, jelre töltjük, és ebből a törzsoldatból hígítunk az atomabszorpciós és az ICP-méréshez. A mérési hullámhosszokat az 5. táblázat tartalmazza:

5. táblázat. *A tej ásványi alkotórészeinek meghatározására használt hullámhosszok (nm)*

Elem	Atomabszorpció	ICP
Kalcium	422,7	393,4
Magnézium	285,2	279,5
Cink	213,9	213,9
Réz	324,7	324,7
Vas	248,3	238,2
Mangán	279,5	257,6
Kobalt	240,7	238,8
Nikkel	232,0	231,6
Molibdén	217,0	230,4
Kadmium	228,8	214,4
Arzén	193,1	189,0
Stroncium	460,7	407,8
Bárium	553,5	455,4

A mintából mért abszorbancaértékeket, illetve -intenzitásokat a megfelelő koncentrációjú kalibrációs sorozathoz hasonlítva kiszámítható az aktuális koncentráció.

3.2.2.4.2.4. A masztitiszes tej részarányának meghatározása elegytejből az ásványianyag-tartalom alapján

A módszer alkalmas az egészséges tejhez hozzáfejt gyulladásos tőgyből származó tej kimutatására és mennyiségének meghatározására. A módszer a tej tőgygyulladás hatására bekövetkező kémiai összetételének megváltozásán alapszik (6. táblázat).

6. táblázat. *A tej összetételének megváltozása tőgygyulladás hatására*

A vizsgált komponens	A vizsgált csoportok a mastitest-próba alapján				
	Negatív	+	++	+++	++++
Laktóz g/100 g	4,92	4,57	3,99	3,42	3,35
Szárazanyag g/100 g	11,64	11,44	11,33	10,89	10,82
Kálium mg/kg	1327	1169	911	700	627
Nátrium mg/kg	372	678	954	1246	1559
Klorid mg/kg	1090	1317	1554	1770	1773
Kalcium mg/kg	911	975	990	1052	1136
Foszfor mg/kg	833	811	742	680	654
Magnézium mg/kg	122,3	121,4	119,8	117,4	118,0
Cink mg/kg	4,74	4,22	4,06	3,80	3,78
Vas mg/kg	1,01	1,90	2,93	3,56	3,11
Réz mg/kg	0,322	0,302	0,283	0,266	0,245
Mangán mg/kg	0,106	0,131	0,157	0,210	0,198

Amennyiben egy olyan faktort képezünk, ahol a számlálóban csak azok a komponensek szerepelnek, amelyek csökkennek, a nevezőben pedig csak azok, amelyek nőnek a tőgygyulladás hatására, akkor az így kapott faktor a normális tejre számolva 7–8-szor több, mint a +++, illetve ++++ keresztes minták esetében. Az ismeretlen tejmintá f faktorának kiszámítása alapján meghatározható az egészséges tejhez kevert kóros összetételű tej mennyisége.

Mivel a módszer a tej ásványianyag-tartalmának meghatározásán alapszik, az alkalmazott eszközök és vegyszerek megegyeznek a korábban leírtakkal. Az ásványianyag-tartalomra kapott adatokból az f faktor számolása során a laktóz- és a kloridtartalmat tömeg%-ban, a képletben feltüntetett többi elemet pedig mg/kg-ban adjuk meg. Az így számolt f-faktor a következő:

$$f = \frac{K \cdot P \cdot Zn \cdot Cu \cdot \text{laktóz}}{Na \cdot Fe \cdot Mn \cdot Cl}$$

A számolás eredményeképpen a különböző betegcsoportokra kapott faktorokat a 7. táblázat tartalmazza.

7. táblázat. A különböző betegcsoportokra kapott faktorok

Vizsgált csoportok a mastitest-próba alapján	Átlag	Szélső értékek
Negatív	190,8	132–301
+	24,9	16,7–37,0
++	4,62	2,87–7,44
++	1,00	0,66–1,51
++++	0,76	0,50–1,15

A 8. táblázat az egészséges tejhez különböző arányban hozzákevert kóros tejminták befolyását mutatja az f faktor alakulására az elegytejben.

8. táblázat. Az egészséges tejhez kevert masztitiszes tej hatása az f értékére

Az egészséges tej %-os aránya	Az 1, 2, 3 és 4 keresztes tej %-a	f +	f ++	f +++ és f ++++
95	5	168,3	146,5	128,8
90	10	148,5	116,4	89,5
85	15	131,3	92,0	62,8
80	20	117,9	73,4	44,7
75	25	104,1	59,1	33,3
70	30	93,1	59,1	33,3

A táblázat alapján a kóros összetételű tej %-os mennyisége az f faktor segítségével meghatározható. Még pontosabb eredményeket érhetünk el, ha az f faktort ábrázoljuk az egészséges tejhez hozzákevert kóros összetételű tej százalékának függvényében. Az így kapott kalibrációs egyenes segítségével a kóros összetételű tej részaránya közvetlenül leolvasható.

3.2.2.4.3. Szeléntartalom meghatározása fluorimetriás módszerrel

Mivel a szeléntartalom rendkívül érzékeny a roncsolási körülményekre, ezért a szeléntartalom meghatározásánál nedves roncsolással végezzük a feltárást. Az így roncsolt minta savas oldatához 2,3-diamino-naftalin reagensoldatot adunk, és a kapott piazszelenol-komplexet fluorimetriásan mérjük. A fluorimetriás mérés során a gerjesztési hullámhossz 380 nm, a mérési hullámhossz 519 nm.

A meghatározás során egy 250 cm³-es csiszolatos gömblobbikba a szeléntartalomtól függően 2–5 g mintát mérünk be, melyhez 20 cm³ koncentrált salétromsavat adunk, és két napon át állni hagyjuk. Ezt követően 2 cm³ koncentrált perklórsavat adunk a rendszerhez, és csiszolatos spirálhűtő segítségével homokfürdőn 180 °C-on 16 órán át hevítjük, majd 1 cm³ koncentrált kénsav

hozzáadása után az elegyet óvatosan melegítve bepároljuk. Az oldatot lehűtve 1 cm^3 koncentrált sósavat adunk hozzá, vízfürdőn 10 percig melegítjük, majd a roncsolmányt desztillált vízzel 100 cm^3 -es főzőpohárba mossuk át, mintegy 50 cm^3 végtérfogatra. Az elroncsolt oldathoz 5 cm^3 maszkírozó oldatot (mely Na-oxalátot, Na-fluoridot, EDTA-t és hidroxil-ammónium-kloridot tartalmaz) adunk, a pH-t ammónium-hidroxid-oldattal 2,0-re állítjuk be, hozzápipettázunk 5 cm^3 0,1% 2,3-diamino-naftalin oldatot, és 2 órán át sötétben állni hagyjuk. A komplex kialakulása után az oldatot desztillált vízzel rázóötölcserbe mossuk, $2 \times 5\text{ cm}^3$ ciklohexánnal extraháljuk, majd az egyesített szerves fázisokat a vakpróbával szemben 20 percen belül fluorimetriáljuk 380 nm gerjesztési és 519 nm emissziós hullámhosszakon. A megfelelően elkészített kalibrációs görbe segítségével, amelyben 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 és $1,0\text{ }\mu\text{g/cm}^3$ szelénkoncentrációt ábrázolunk a hozzátartozó emisszióértékekkel, az ismeretlen szeléntartalom számolható. A minta szeléntartalmát mg/kg vagy $\mu\text{g/g}$ mértékegységben adjuk meg.

3.2.2.4.4. Kéntartalom-meghatározás élelmi anyagokból induktív csatolású plazmaemisszióval

A módszer alkalmas különböző szárazanyag-tartalmú élelmiszerek összes kén-tartalmának meghatározására. A különböző vizsgálandó mintákat $100\text{--}300\text{ }^\circ\text{C}$ -os hőmérsékleten $100\text{--}150\text{ bar}$ nyomáson salétromsavval elroncsoljuk, majd a fel-tárt oldatból megfelelő hígítás után a kén-tartalmat ICP-módszerrel meghatáro-zuk. Mivel a hagyományos roncsolási módszereknél a kén-tartalom nagy része a rendszerből elszökik, ezért egy komputer által vezérelt, nagynyomású roncsoló-berendezésben, hőmérsékletprogram segítségével végezzük a minta roncsolását (31. ábra).



31. ábra. Nagynyomású roncsoló hőmérséklet-programozással

Ennek során 20 perc alatt 50 °C-ról 100 °C-ra, majd újabb 20 perc alatt 100 °C-ról 160 °C-ra melegítjük a mintát, és két órán át 160 °C-on tartjuk. Ezt követően 1 órán át 160 °C-ról 40 °C-ra hűtjük, és az így kapott oldatot megfelelő módon hígítva alkalmazzuk az ICP-s kénmeghatározásra. Ennek során a 182,03 nm-en mért intenzitásértékből a különböző koncentrációjú kalibrálóoldatok segítségével meghatározható az oldat kéntartalma. A megfelelő hígítások figyelembevételével kiszámítható a minta eredeti kéntartalma.

3.2.2.4.5. Ionszelektív elektródok alkalmazása az élelmiszer-analitikában

3.2.2.4.5.1. Az ionszelektív elektródák alkalmazása

Az elmúlt évtizedekben számos ionra fejlesztettek ki olyan szelektív membrán-elektrodokat, melyek az ionkoncentráció gyors meghatározását teszik lehetővé. Az ionszelektív elektróddal való mérés a potenciometriás módszerek közé tartozik. A méréshez az ionszelektív elektródon kívül még egy referenciaelektrodra is szükség van, és e két elektróda együttesen alkotja a mérőrendszert. A pH-mérésnél használt kombinált elektróddal ellentétben az ionszelektív méréstechnikában nem kombinált elektródokat használnak, hanem külön ionszelektív és külön referenciaelektrodokat alkalmaznak. **Az ionszelektív elektród potenciálja a mintában lévő mérendő ion aktivitásától függ, amely potenciál nagyságát a Nernst-féle képlettel lehet leírni:**

$$E = E_o + \frac{RT}{nF} \ln a,$$

ahol: E = az elektród potenciálja,
 E_o = az elektród normálpotenciálja,
 R = egyetemes gázállandó (8,314 J · mol⁻¹ · K⁻¹),
 T = abszolút hőmérséklet (K),
 n = a mérendő ion töltésszáma,
 F = Faraday-féle állandó (96 496 Coulomb),
 a = a mérendő ion aktivitása (mol/dm³).

A referenciaelektrod és az ionszelektív elektród potenciáljának különbségét egy mérőeszköz méri, amely feszültségérték arányos a mérendő ionaktivitással.

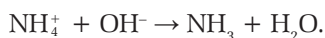
Az elektród legfontosabb része egy ionszelektív membrán, amelynek anyaga a mérendő ion rosszul oldódó vegyületéből áll, ami a szilárdtest-elektrodok esetében lehet szervetlen só, üvegelektrodok esetében speciális üveg, mátrixelektrodok esetében pedig szerves ioncserélő anyag. Az elektród mintába merülésekor **a membrán felületén egyensúlyi állapot áll be az oldott ionokra vonatkozóan.** Minél nagyobb a mintában lévő ionok aktivitása, annál több mérendő ion található a membrán felületén, amelyek a membránt feltöltik. Az elektródok szelektivitása a membrán csökkenő oldhatóságával növekszik. A keresztérzékenységet és az elektródmérgeződésekkel olyan anyagok okozzák, amelyek a membrán anyagával reagálva a mé-

rendő ionnál kevésbé oldható anyagot tudnak képezni. Azok az ionok, amelyek a membrán anyagával jobban oldódó anyagot adnak, mint a mérendő ion, a mérést csak igen nagy feleslegben zavarják, de nem okozzák az elektród mérgeződését.

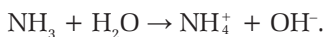
Az ammóniumionok koncentrációjának mérése esetén (és más ionok koncentrációjának mérésekor is) a referenciaelektród potenciáljának függetlennek kell lennie a minta anyagától, hisz **az ionszelektív elektród potenciálját mindig a referenciaelektród potenciáljához mérik.** A referenciaelektród az úgynevezett normál hidrogénelektród, ami platinakorommal bevont fém-platina elektród, amely 1 mol/dm³ koncentrációjú sósavoldatba merül, miközben 0,1 MPa nyomású hidrogéngázt buborékoltatunk keresztül rajta. A **gyakorlatban azonban az Ag/AgCl referenciaelektródot használjuk,** amely egy tömény kloridoldatba merülő ezüst-klorid réteggel bevont ezüstdrótból áll, és kloridszelektív elektródként a klorid koncentrációjának megfelelő potenciált adja. A vonatkoztatási elektrolit egy diafragmán keresztül áll kapcsolatban a mérendő mintával, amely érintkezési ponton megtörténik a méréshez szükséges elektródok közötti töltésátvitel. Az ionszelektív mérésekhez csiszolatos diafragmájú referenciaelektródokat használnak, amelyeknél ugyan a pH-méréseknél nagyobb diffúziós potenciálok alakulnak ki, de a potenciálok reprodukálhatósága lényegesen jobb.

Az ionszelektív elektróddal való méréskor létrehozuk az **elektród kalibrálási görbét,** ami **az elektródpotenciált ábrázolja a koncentráció logaritmusának függvényében.** A kimutatási határ közelében lévő nagyon kis koncentrációnál az elektród potenciálja gyakorlatilag alig változik, a mérendő ion koncentrációjának növekedésével azonban a potenciált egyre inkább a mérendő ion határozza meg. **A lineáris szakaszban** a potenciál egyenletesen változik a koncentráció logaritmusának függvényében, amelynek során **a potenciált kizárólag a mérendő ion koncentrációja határozza meg.** Nagyon magas koncentrációtartományban a lineáris szakasz nem lineáris szakaszba vált át, aminek következtében e koncentrációk az ionszelektív elektróddal nem mérhetők.

A legtöbb ionszelektív elektród szilárdtest-elektród, amelynek membránját egy nehezen oldódó szervesen só alkotja. Néhány ion esetében a membrán anyagát speciális üveg vagy PVC-vel polimerizált szerves ioncserélők alkotják. Néhány esetben, pl. az ammóniumionok meghatározásánál, olyan szenzorokat alkalmaznak, amelyek a gáznemű állapotba átjutott anyagokkal reagálnak; ezek az úgynevezett gázérzékeny elektródok. A **gázérzékeny elektródok** valójában nem is ionszelektív elektródok, mert ezekkel nem az ionok koncentrációját, hanem **a gázok parciális nyomását mérik.** A gázérzékeny elektróda alkotóeleme egy speciális felépítésű pH-üvegelektród, amely az Ag/AgCl referenciaelektróddal közösen merül egy speciális elektrolitoldatba, amelyet gázáteresztő membrán választ el a mérendő mintától. A mérés során a meghatározandó iont a pH beállításával gázállapotba vesszük; ammóniumionok esetében a következő módon:



A keletkező gáz nyomása függ a koncentrációtól és a mérés során uralkodó légnyomástól. A parciális nyomástól függően a gáz az elektród elektrolitterébe diffundál, és megváltoztatja a membrán és a pH-elektroda közötti diffúziós réteg pH-értékét, ugyanis itt a következő reakció játszódik le:



A beépített pH-elektroda megváltozott jeléből következtetnek vissza a mintában lévő ammóniumion koncentrációjára. Az ammónium gázérzékelő elektróda esetén az alapelektrod a hidrogénion-szelektív üvegelektrod. A reakcióréteg 10^{-2} mol/dm³ ammónium-klorid-oldat, a detektálás alsó határa 10^{-6} mol/dm³, az optimális pH-érték 12, és a meghatározást zavarják az illó aminok. **A gázérzékelő elektródok szelektivitása nagyobb**, mint bármely más elektródátípusé, ugyanis csak a keletkező gáz diffundál át a membránon az elektróda elektrolitterébe, amelynek koncentrációját a minta pH-értékének megváltozása révén mérik meg, aminek következtében keresztérzékenységből származó mérési hiba nem léphet fel. A gázérzékelő elektródokat is zavarhatja azonban a minta sótartalmától függő ionerősség, ugyanis az ozmózisnyomás miatt vízgőztranszport indul meg a töményebb oldatba, amely azt lassan felhígítja. Az elektrolitoldatok hígulása és töményedése főleg a membrán diffúziós rétegére van hatással. A minta túl alacsony ionerősségét kondicionálóoldat hozzáadásával lehet az elektrolitok ionerősségére emelni, a nagyobb ionerősségű mintákat pedig megfelelő mértékben hígítani kell. Óvatosnak kell lenni a 13-nál nagyobb pH-tartományban végzett mérésnél az ammónia-szelektív elektróddal, mert a membrán egy idő múlva megdagad, és ekkor a pórusméretek csökkennek. Az ammónia mérésekor további **problémát okoznak a nehézfémek**, amelyek egyrészt **amino-komplexekben megkötik az ammóniát**, másrészt pedig a membránon kicsapódva nehézfém-hidroxid lepedéket alkotnak. E jelenség meggátolható, ha a mintához 1,5%-os EDTA-oldatot adagolnak.

A hőmérséklet is jelentős mértékben befolyásolja az elektródpotenciált, ezért nagyon lényeges, hogy a minta és a kalibrálóoldatok hőmérsékletének különbsége ne haladja meg a ± 2 °C-ot. Ebben a hőmérséklet-tartományban a hőmérséklet okozta hiba kisebb mint 1,5%. A minta előkészítése során ügyelni kell arra, hogy némely elektróda esetén bizonyos feltételek szükségesek ahhoz, hogy a mérés végbemehessen. Az ammóniumionok méréséhez elengedhetetlen a megfelelő pH beállítása, és az adott ionerősség beállításával megteremtődik a stabil vonatkoztatási potenciál előfeltétele. A minta-előkészítés célja az is, hogy a mintát a befolyásoló tényezőkre úgy kondicionálják, hogy a mérés ideális körülmények között mehessen végbe. Célszerű, ha mind a standardoldatot, mind a minta ionerősségét desztillált vízzel való hígítással vagy ionerősség-beállító oldatok segítségével azonos koncentrációra hozzuk. A pH-értéket tekintve úgy tűnik, hogy minden meghatározáshoz tartozik egy különösen előnyös pH-tartomány, amelynek beállítása pH-pufferek hozzáadásával lehetséges. Az erősen savas vagy lúgos

oldatokat a pH-beállítás előtt hígítani kell, nehogy a pufferek hatására keletkező sók miatt túlságosan megemelkedjen az ionerősség. Zavaró ionok az elektróda megmérgeződését vagy keresztérzékenységet okozva zavarják a mérést. A minta megfelelő előkészítése után következhet a mérés, amely háromfajta módszerrel valósítható meg.

3.2.2.4.5.2. A roncsolásban képződött ammónia meghatározása ionszelektív elektróddal

Az ammóniát (ammóniumion) direkt módszerrel, közvetlenül mérjük, vannak azonban indirekt módszerek is, amelyeknél indikátorionra van szükség, mivel az elektród nem reagál a mérendő ionra. Az ammónia meghatározása során felvett **kalibrációs görbe lineáris szakaszán célszerű a mérést elvégezni**. A kalibrációs görbéhez a lineáris szakaszban elegendő kevesebb (kettő-három), a nem lineáris tartományban pedig öt standardoldat használata. A standardoldatok mérését követően **az elektródfeszültséget a koncentráció logaritmusának függvényében ábrázolva kapjuk meg a kalibrációs egyenest**. A kalibrációra használt standardoldatok ionerősségének, hőmérsékletének és pH-jának meg kell felelniük a mérendő minta hasonló paramétereinek. A mintába helyezett elektródák közti feszültséget mérve, majd azt a kalibráló egyeneshez hasonlítva, a koncentráció közvetlenül számolható.

A Kjeldahl-roncsolás során keletkezett ammóniumionok meghatározására jól használható például az OP-NH₄-0711P típusú ammóniumion-szelektív elektród, mely 10⁰–10⁻⁶ mol/dm³ tartományban használható, és amelynek reprodukáló képessége a nagyobb koncentrációtól a kisebb felé haladva ±0,02–0,05 pNH₄. Az elektróda szelektivitása a szelektivitási állandóval jellemezhető, ami azt a mérendő ion/zavaró ion koncentrációarányt fejezi ki, amelynél nagyobb koncentrációrányados esetén az elektród szelektív a mérendő, jelen esetben az ammóniumionra nézve. A szelektivitási állandó káliumionok jelenlétében $1,5 \cdot 10^{-1}$, ami azt jelenti, hogy a mérés káliumionok jelenlétében akkor hajtható végre, ha az ammóniumionok koncentrációja eléri vagy meghaladja a káliumion-koncentráció 0,15-szorosát. A szelektivitási állandó nátriumionra $5,5 \cdot 10^{-3}$. E két ionon kívül más ionokkal nem nagyon kell számolni, hisz e két ion forráspontemelésként kerülhet a Kjeldahl-roncsolás során az oldatba.

Az elektród előkészítése során az elektródtestet összekötjük az elektródkábelrel, majd a tömítőgyűrűk segítségével a membránt az elektród alsó részénél rögzítjük. Ezt követően egy 2 cm³-es fecskendő segítségével a membrán feletti részt FIL-NH₄-1 töltőoldattal megtöltjük, majd a kupakot buborékmentesen visszacsavarjuk. Az összeszerelt, buborékmentes elektródot néhány órán át 0,01 mol/dm³ koncentrációjú ammónium-klorid-oldatban áztatjuk, ezután az elektród négy-öt hétig működőképes, majd elveszíti mérőképességét, amit a mérések reprodukálhatatlansága jelez.

A mérések során kialakított mérőcella az előzőek szerint összeszerelt ammónium-ionszelektív elektródból és a vonatkoztatási elektródból áll, amelyek egy

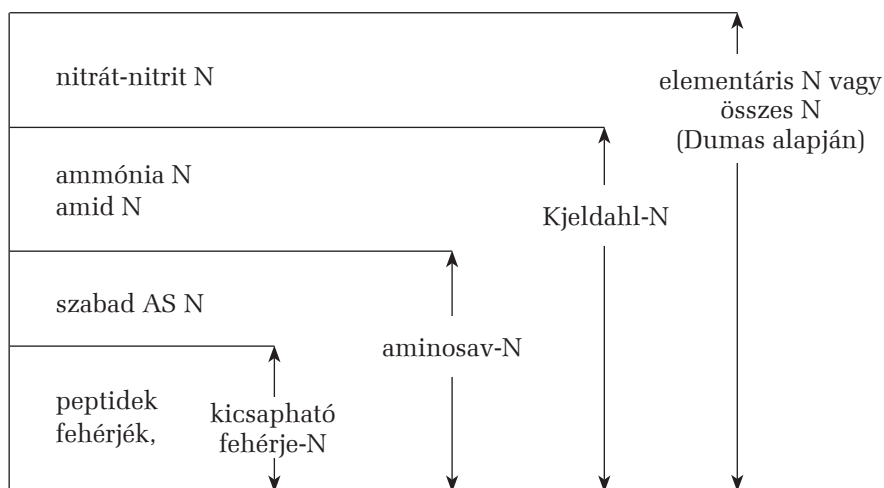
pohárban lévő mérőoldatba merülnek. Az ismeretlen minta mérése előtt kalibrációs egyenest kell felvenni, amelynek során ismert ammóniumion-koncentrációjú standardoldatokat használunk. Az azonos típusú elektródok kalibrációs adatai nem azonosak, ezért **minden elektróda esetében egyedi kalibrációs görbét kell felvenni**. Amennyiben a minta várható pNH_4 -értékeit ismerjük, elegendő a kalibrációs görbének csak a várt tartományba eső részletét felvenni. A kalibrációs görbét célszerű a mérés során többször ellenőrizni $0,1 \text{ mol/dm}^3$ -nél hígabb ammónium-klorid-oldat mérésével. Amennyiben a mérendő oldat az ammóniumionokon kívül más ionokat is tartalmaz, akkor a standardoldatok ionerősségét célszerű a mérendő oldat ionerősségéhez közelíteni.

3.3. Szerves alkotórészek meghatározása

Az élelmiszerek az ásványi anyagokon túl főként nyersfehérjéből, nyerszsírból, nyersrostból és nitrogénmentes kivonható anyagokból állnak. Tartalmaznak ezen túl kis koncentrációban olyan vegyületeket is, mint pl. a vitaminok, antioxidánsok, enzimek stb., amelyek ismerete ugyancsak fontos az élelmiszermérnökök számára. E fejezetben a fontosabb szerves komponensek meghatározását tárgyaljuk.

3.3.1. Anitrogén és különféle nitrogéntartalmú anyagok meghatározása

Az élelmiszerek nitrogéntartalmú anyagait kémiai szerkezetük, illetve a meghatározás módja alapján a 32. ábra szerint osztályozhatjuk:



32. ábra. Élelmiszerek nitrogéntartalmú anyagainak osztályozása a kémiai szerkezet, valamint a meghatározás módszere alapján

Az összeállításból látszik, hogy a fehérjéket és peptideket fehérjekicsapó szerekkel el lehet távolítani, ezek a komponensek alkotják a nitrogéntartalmú anyagok valódi fehérje frakcióját. Az aminosav-analízissel e frakción túl még szabad aminosavakat is meg lehet határozni, míg a Kjeldahl-féle eljárással az amid- és az ammónia-nitrogént az aminosav-analizátorral meghatározható frakción túl is lehet mérni. A Dumas-féle eljárás minden nitrogéntartalmú vegyületet mér. A nitrogéntartalmú anyagok kémiai szerkezet alapján való elkülönítése nemcsak az alkalmazott analitikai módszer miatt fontos, hanem azért is, mert az ember és a különböző állatfajok eltérő emésztési sajátosságai miatt a különböző frakciókat nem egyformán hasznosítják. A valódi fehérjéket, a peptideket és az aminosavakat az egygyomrúak és a kérődzők is egyaránt hasznosítják, az amidok és az ammónia csak a kérődzők számára hasznosíthatók, a nitrátok és a nitritek pedig sem az emberben, sem az állatban nem értékesülnek, sőt nagyobb mennyiségben károsak is lehetnek.

3.3.1.1. A fehérjék kivonása, kicsapása

A fehérjék állati vagy növényi anyagokból való kinyerése során a hatékonyság döntő tényezője a vizsgált minta maximális mértékű dezintegrálása. A sejtszerkezet megbontására a mechanikai aprításon kívül a szétfagyasztást vagy hipertóniás oldatokkal való kezelést is alkalmazzák. A fehérjék oldhatósága igen különböző, így például a vázfehérjék nem oldódnak vízben és más egyéb oldószerekben sem. A növényi fehérjék egy csoportja például 60–80%-os alkoholban oldódik, a többi fehérje pedig többé-kevésbé oldható vízben, illetve híg vizes oldatokban. Az oldódás függ a vizes oldat ionerősségétől, az ionok minőségétől és koncentrációjától, a pH-tól és a hőmérséklettől.

Magas hőmérsékleten és extrém alacsony vagy magas pH-n az oldódás általában végbemegy, **az izoelektromos pontnak megfelelő pH-n a fehérjék viszont kicsapódnak.** Az egyes oldószerek a különböző fehérjéket eltérő arányban oldják, mert az oldás mértéke az oldószeren kívül függ a fehérje minőségétől, a poláros hidofil és az apoláros hidrofób csoportok arányától, ezek elrendezésétől és az így létrejövő dipólusmomentum nagyságától. Az ionok minőségétől függően ugyanabból az anyagból különböző mennyiségű és minőségű fehérje oldható ki. **A neutrális só- és pufferoldatok peptizáló hatása növelhető anionos detergens-ek adagolásával,** és a peptidlánc összecsavarodottságát okozó diszulfidhidak redukciója vagy oxidációja szintén növeli az oldhatóságot. Nyolcnál nagyobb pH-n a rézionokkal való komplexképzés ugyancsak a fehérje oldhatóságának növelése irányába hat, azonban itt már a fehérje szerkezete is mélyrehatóan átalakul.

A gyakorlatban a fehérjék analízise során az alábbi fehérjekieloldási technológiákat alkalmazzák. Albuminok és globulinok kinyerése állati szövetekből a következő módszerek szerint lehetséges. **Az albuminok, a különféle pszeudoglobulinok és a globulinok csak együtt vonhatók ki;** az egyes frakciók elkülönítését

különféle egyéb eljárásokkal lehet elvégezni. Az albuminok például tiszta vízben jól oldhatók, és csak ammónium-szulfáttal telített oldatból csapódnak ki. Gabonafehérje extrakciójára a híg lúgokat, a pH 9–12 közötti puffereket vagy a lúgosan hidrolizáló sók oldatát használják, amelynek során a kísérleti körülményektől függően az összes fehérje 60–95%-a vonható ki. **A kukoricafehérje kivonására** Mertz és Bressan az alábbi eljárást dolgozták ki, mely más növények fehérjeinek extrakciójára is alkalmazható:

10 g zsírtalanított őrleményhez 20 cm³ desztillált vizet, majd annyi 0,2%-os NaOH-oldatot adunk, hogy a szuszpenzió pH-ja 9 legyen. Ezt követően lefagyasztjuk, majd a fagyasztás után felolvasztjuk a szuszpenziót. Ezt a műveletet még kétszer megismételjük. A felolvasztott anyaghoz 250 cm³ desztillált vizet, 150 g CuSO₄ · 5 H₂O-t és 20 g Na₂SO₃-ot adunk. A sók feloldódása után az oldat pH-ját 40%-os NaOH-dal pH=10-re állítjuk be, majd 0,5 M NaOH-dal folytatva a lúgosítást, a pH-t állandó keverés közben 12-re növeljük. A szuszpenziót ezt követően 25 °C-on három órán át intenzíven kevertetjük, majd 20 percig 2000 g-n centrifugáljuk. A felülúszót leöntjük és megőrizzük, az üledéket pedig 100 cm³ 0,01 M NaOH-dal szuszpendáljuk, egy órán át 25 °C-on ismét kevertetjük, majd centrifugáljuk. A mosó felülúszót is az eredeti kivonathoz adjuk, majd az egyesített kivonatokat lefagyasztjuk és felolvasztjuk. A kicsapódott keményítőt centrifugálással eltávolítjuk. A tiszta oldatot 0,02 M sósavval szemben három napig 0 °C-on dializáljuk, majd a dialízist három napon keresztül desztillált vízzel szemben folytatjuk. A sómentes fehérjeoldatot rotációs gyorsbepárlón bepároljuk, majd a negyedére csökkent oldatot liofilezzük. A kapott száraz fehérjepor 68–75% nyersfehérjét tartalmaz, 11-es pH-jú karbonát- vagy hidrogén-karbonát-pufferben, valamint 0,01 M NaOH-oldatban jól oldódik. A fehérje 26%-a oldódik vízben, 44%-a 70%-os etanolban, 10%-a pedig nem-fehérje nitrogénként dializálódik.

Az albuminok és a globulinok együttes meghatározása esetén 6 g lisztet 100 cm³ 5%-os K₂SO₄-oldattal 20 °C-on egy órán át rázatjuk, majd centrifugáljuk, és az oldatot finom pórusú analitikai szűrőpapíron szűrjük. Az oldat 50 cm³-ét használjuk fel az albumin- és a globulinfrakció meghatározására. A meghatározást Kjeldahl-módszerrel végezzük. A glutenin meghatározása során 8 g lisztet 50 cm³ vízzel és 5 cm³ 1 M NaOH-dal egy óráig intenzíven kevertetünk, 96–99%-os metanollal 200 cm³-re töltjük fel, majd további 5 cm³ metanollal kompenzáljuk a 8 g liszt térfogatát. A keményítő a metanol hatására kicsapódik, a vattaszűrőn átszűrt szuszpenzióból 50 cm³ 2 g lisztnek felel meg. Brómtimolkék-indikátor jelenlétében az 50 cm³ oldat pH-ját 0,2 M sósavval 6,4-re állítjuk be. A pH-beállítását követően a glutenin kicsapódik, a gliadin pedig oldatban marad. Egy óra állás után a csapadékot lecentrifugáljuk, ezt követően a gliadint tartalmazó felülúszó alkoholos oldat leönthető, a glutenin csapadékot pedig kevés vízzel Kjeldahl-lombikba mossuk át. A gliadint a sósavban oldható fehérje és a glutenin összegéből, valamint az összes fehérje különbségéből számoljuk.

Növényi vagy állati szövetek fehérjetartalmát sajtolással is kinyerhetjük. A laboratóriumi méretű hidraulikus sajtolókkal létrehozott nyomás hatására a nedves minták folyadéktartalma eltávolítható. Az így nyert minta azonban nem képviseli a vizsgálati anyag teljes fehérjetartalmát, hanem csak a strukturális elemekhez nem kötött, vízben oldott fehérjének azt a részét, amely az adott nyomáson sajtolással kinyerhető.

A fehérjeoldatokból a fehérjét esetenként analitikai célra kicsapatjuk. **A fehérjék oldataiból kicsaphatók szerves oldószerekkel**, amelyek közül az acetón, a dioxán és az etil-alkohol használatos leginkább erre a célra, **nehézfém-sókkal**, amelyek közül leginkább az ólom-, a réz-, a higany-, az urán-, a vas- és a cinksók jöhetnek számításba. Az **ásványi savak** közül a fehérjék leválasztására leggyakrabban a sósavat, a salétromsavat és a foszforsavat használjuk, a **szerves savak** közül pedig kiváló fehérjekicsapó hatása van a triklór-ecetsavnak, a szulfo-szalicilsavnak és a pikrinsavnak. Esetenként alkalmazhatjuk a különböző savak keverékét (1 g pikrinsav + 2 g citromsav 100 cm³ vízben), és a savak mellett adhatunk kemikáliát is (10 rész 20%-os ecetsav és 1 rész 10%-os kálium-hexaciano-ferrit elegye). A fehérjék kivonása és kicsapása akár gravimetriás meghatározásra is alkalmas lehet, amennyiben az a mintából kvantitatíve kivonható és vizes oldatba vihető. Az eljárás alkalmas lehet néhány fehérje esetében, a gyakorlatban azonban ez a módszer nem terjedt el, mert az őrlés és a kivonás körülményei nehezen standardizálhatók.

3.3.1.2. A fehérjetartalom mérése a nitrogéntartalom alapján

Az indirekt fehérjemeghatározási módszerek többsége a nitrogéntartalom meghatározásán alapszik, amit az tesz lehetővé, hogy a fehérjék elemi összetétele a fehérje minőségétől és eredetétől függetlenül közelítőleg azonos. A nitrogéntartalom alapuló meghatározás alapja, hogy **a legtöbb fehérje nitrogéntartalma 16% körül alakul**, ezért ha a nitrogéntartalmat megszorozzuk a $100/16=6,25$ **konverziós faktoral**, akkor megkapjuk a fehérjetartalmat. A nitrogéntartalom alapján csak a tiszta, tisztított fehérjék vagy olyan anyagok fehérjetartalmát lehet meghatározni, amelyek a fehérjén kívül más nitrogéntartalmú anyagot nem tartalmaznak. Az élelmiszerek a fehérjén kívül más nitrogéntartalmú anyagot is tartalmazhatnak, ezért az élelmiszer-analitikában a nitrogéntartalom alapján nem a fehérjetartalmat, hanem az úgynevezett **nyersfehérje-tartalmat határozzuk meg**, melynek során az élelmiszer nitrogén%-át 6,25 konverziós faktoral szorozzuk. Ennek megfelelően fehérjeként mérjük az összes nitrogéntartalmú vegyületet, amit az adott módszerrel meg tudunk határozni. A gyakorlatban kielégítő pontosságú az eredmény a 6,25 szorzófaktor számításával. Amennyiben ennél pontosabb eredményt kívánunk elérni, célszerű a vizsgálati anyag fehérjei tényleges nitrogéntartalmának megfelelő szorzószámával szorozni. Szélsőséges esetként említhető a lazacikrában lévő protamin, amelynek nitrogéntartalma 30,7%, ezért

a 6,25-ös konverziós faktor alkalmazásával majdnem kétszer annyi fehérjetartalmat kapnánk, mint a tényleges érték. A protamin tényleges konverziós faktora 3,25. Ellenpéldaként említhető a toll keratintartalma, amely összesen csak 15% nitrogént tartalmaz, ennek megfelelően a konverziós faktor 6,66. A 9. táblázat a különféle fehérjék nitrogéntartalmát és a nitrogéntartalomból számított konverziós faktorokat tartalmazza.

9. táblázat. *Néhány alapanyag fehérjenitrogén-tartalma és a szorzófaktorok*

Fehérje	A fehérje nitrogéntartalma (%)	Faktor
Árpa	17,15	5,83
Bab, borsó, lencse	16,00	6,25
Búza	17,15	5,83
Búzacsíra	17,23	5,80
Búza-endospermium	17,54	5,70
Búzakorpa	15,84	6,31
Edesztin (kendermag)	18,55	5,39
Fibrin (humánplazma)	16,90	5,91
Fibroin (hernyóselyem)	18,70	5,35
Földdiódara	18,31	5,46
Gliadin (prolamin búzából)	17,66	5,66
Glicinin (szójabab)	17,30	5,78
Globulin (humánplazma)	15,24	6,56
Globulin	16,03	6,24
Gyapotmag	18,86	5,30
Hemoglobin (lóvér)	16,80	5,95
Hisztin (borjúmáj)	18,00	5,55
Hisztin (borjútimusz)	18,20	5,49
Hordein (prolamin árpából)	17,21	5,81
Hús	16,00	6,25
Kazein (tehéntej)	15,63	6,39
Keratin (gyapjú)	16,30	6,13
Keratin (sertéssörte)	16,60	6,02
Keratin (toll)	15,00	6,66
Kókuszdíó	18,86	5,30
Kollagén (marhabőr)	18,60	5,37
Kukorica	16,00	6,25
Laktoglobulin (tehéntej)	15,60	6,41
Legumin (borsó)	16,04	5,54

Fehérje	A fehérje nitrogéntartalma (%)	Faktor
Napraforgó és lendar	18,87	5,30
Ovalbumin (tyúktojás)	15,76	6,34
Plazmaalbumin (humán)	15,95	6,27
Plazmaalbumin (marha)	16,07	6,22
Protamin (lazacikra)	30,70	3,25
Protamin (madársperma)	24,40	4,10
Rizs	16,80	5,95
Rozs	17,15	5,83
Szójabab	17,51	5,71
Tej	15,67	6,38
Tojás	16,00	6,25
Zab	17,15	5,83
Zein (prolamin kukoricából)	16,20	6,17
Zselatin (kollagén)	18,00	5,55

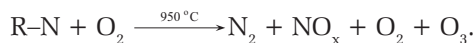
3.3.1.3. A nitrogéntartalom mérése Dumas módszerével

A különböző szerves és szervetlen anyagok jelentős részének nitrogéntartalmát meg lehet határozni a Dumas által 1826-ban közölt eljárással. Az elmúlt közel két évszázad alatt a módszert folyamatosan fejlesztették, s ma a módosított **Dumas-féle égetéses módszerként** ismerik a világban. Az alapelv **a minta 900–1000 °C-os hőmérsékleten, ellenőrzött oxigénellátás melletti elégetése inert gázáramban**. A Dumas-módszerrel való összesnitrogén-tartalom meghatározása négy fő szakaszból áll:

- égetés,
- redukció,
- gáztisztítás,
- detektálás.

A Dumas-féle égetés mechanizmusa

A nitrogéntartalmú szerves és szervetlen vegyületek 950 °C-on katalizátor (réz-oxid vagy réz-oxid/platina) jelenlétében részben nitrogén-oxidokká, részben pedig molekuláris nitrogénné alakulnak a következők szerint:



A technikai megvalósítás során mind az oxigén, mind az ún. inert gáz (He, Ar, CO₂) áramlik. Az eljáráshoz nagy tisztaságú (99,99%, ún. négykilences) gázok szükségesek. Az égetés réz-oxid töltetű kvarccsőben történik, majd a gázkeverék az utóégetőbe kerül, amelynek töltete réz-oxid/platina katalizátor keveréke. Ek-

kor a nehezen oxidálható vegyületek mennyiségi átalakítása is megtörténik. Tekintettel arra, hogy az égetésnél nitrogén-oxidok is képződnek, ezeket a vegyületeket – mivel a detektálás gázfázisban N_2 -ként történik – molekuláris nitrogénné kell redukálni. Erre szolgál a wolframkatalizátor, amely egyidejűleg a felesleges oxigént is megköti.

A nitrogéntartalom mérése

Az így kapott áramló gázkeverék több olyan komponenst is tartalmaz, amelyek a mérést többé-kevésbé zavarják (SO_2 , H_2O , hidrogén-halogenidek), s így torzítyják az eredményt. Ezért adszorbenseket kell ezen összetevők eltávolítására, a gáz szárítására alkalmazni. Ha a hordozógáz CO_2 , akkor az elégetéskor keletkező CO_2 elnyeletéséről le lehet mondani. A kapott „tisztá” hordozógázban a nitrogén azon az elven mérhető, hogy a gázok hővezető képessége eltérő. **Hővezetőképesség-mérő cella** (egyenletes hőfokon tartott cella hőmérséklet-változása) **alkalmazásával elérhető, hogy a N_2 mennyiségével arányos jelet kapjunk.** Ennek nagyságát ismert minták nitrogéntartalmának ugyanilyen körülmények közötti meghatározása során kapott eredményekkel hasonlítjuk össze. **Korábban** a detektálás során **térfogatméréssel állapították meg a képződött N_2 gáz mennyiségét**, miután a CO_2 -gázt KOH-ban elnyelették. Ebben az esetben figyelembe kell venni a hőmérséklettel változó légnyomás értékét is.

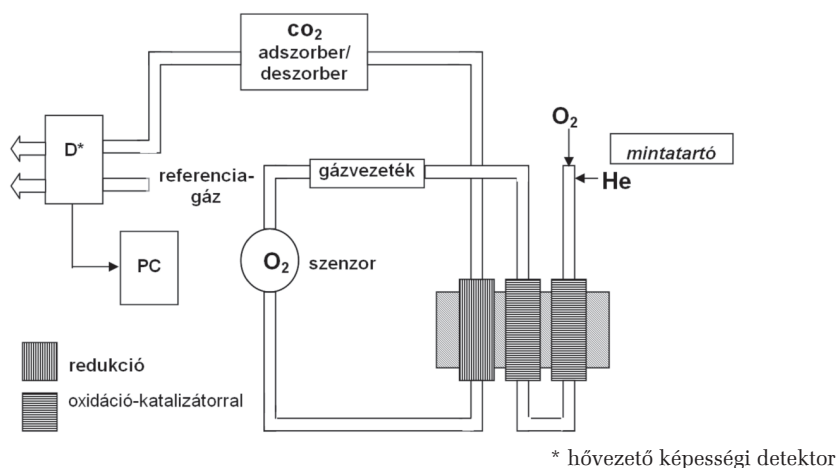
A fehérjetartalom számítása

A nitrogéntartalomból a nyersfehérje-tartalmat a 9. táblázatban bemutatott fehérjekonverziós faktorok segítségével számíthatjuk ki. Összehasonlító kalibráló mintaként leggyakrabban nikotinsavat, lizin-hidrokloridot, EDTA-t és triptofánt használunk. Mivel ezzel **a módszerrel a nitrát-nitrit tartalmat is** – a Kjeldhal-módszerrel ellentétben – redukció után **a nitrogéntartalomban mérjük**, számos mintatípusnál a ténylegesnél magasabb nyersfehérje-tartalmat kapunk az átszámítás során. Ez különösen a leveles zöldségeknél (spenót, sóska), a zöldliszteknel (lucerna-, fűszénák) fordulhat elő.

Az ismertetett módszer nagysorozatú mérésekre alkalmas változatainak számos fontos követelményt kell teljesíteniük. Ilyenek többek között:

- egyszerű mintabevitel szilárd és/vagy folyadék mintákból,
- olcsó vagy többször felhasználható mintatartók,
- kis gázfogyasztás,
- könnyű adszorbercsere lehetősége,
- nagyfokú, gázszivárgás elleni tömítettség,
- a gázáram és pontos szabályozhatósága.

Egy Dumas-féle módszerrel működő nitrogénmeghatározó készülék sematikus rajzát a 33. ábra mutatja.



33. ábra. A Dumas-féle módszerrel működő nitrogénmeghatározó készülék sematikus rajza

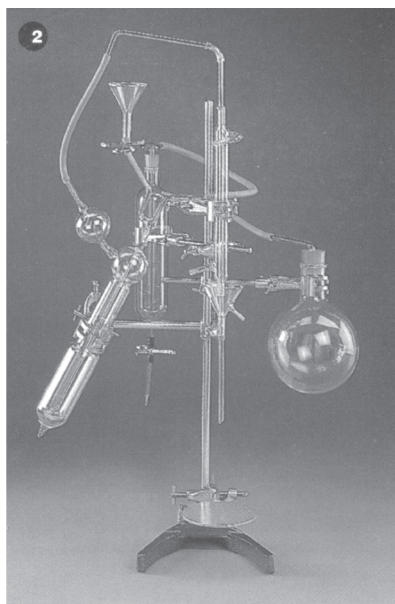
A Dumas-módszer előnyei

A ma elterjedőben lévő készülékek a mintatartóba behelyezett mintát (szilárd minta esetén ón- vagy alumíniumkapszulában, illetve porcelántégelyben) adott számítógépes program szerint elemzik, s így adják meg a nitrogéntartalmat. A módszer elterjedését az teszi indokolttá, hogy a gyártók egyre jobban meg tudják oldani a számítógép vezérelte gépüzemeltetést (a műszakszám növelése), továbbá ezen módszer **kevesebb környezetszennyező terméket bocsát ki**. A mezőgazdasági és élelmiszer-ipari alkalmazás terjedését elősegítheti, hogy ma már olyan készülékek is kereskedelmi forgalomban vannak, amelyekkel maximum 1 g szerves minta vagy 1 cm³ mintatérfogot is mérhető. Természetesen ekkor figyelembe kell venni a végeredményként várható ún. abszolút nitrogén mennyiségét (maximum 200–300 mg), amit a gépkönyvek tartalmaznak. Ugyanakkor hátrány, hogy **csak jelentős napi mintaszám esetén érdemes a készüléket működtetni**, a beruházási költségek magasak, és nem elhanyagolható az égető- (kvarc) és adszorpciós csövek, továbbá a katalizátorok költsége sem.

E készülékek további előnye lehet, hogy ezen elv alapján lehetőség van a nitrogén mellett más elemek (kén, szén) mennyiségének meghatározására is. A fehérjék kéntartalmának ismerete számos növénynél (pl. őszi búza sikérfehérjéinél) nagyon fontos lehet, ezért bizonyos esetekben indokolt a korábbinál jóval bonyolultabb (más égetési hőmérséklet, több adszorpciós cső) és így drágább készülék üzemeltetése is. Ma már az ún. égetéses módszer is bevonult a nagy világszervezetek által elfogadott standard módszerek közé.

3.3.1.4. Kjeldahl-féle módszer

Az élelmiszerek nyersfehérje-tartalma Kjeldahl-módszerrel történő meghatározásának lényege, hogy **több órás tömény kénsavval történő forralás során elroncsoljuk az élelmiszerben lévő fehérjét**, melynek során **az aminosavak aminocsoportjaiból, valamint az egyéb nitrogéntartalmú anyagok** (nitrit és nitrát kivételével) **nitrogénjéből ammónia keletkezik**, ami a kénsavban NH_4HSO_4 (ammónium-hidrogén-szulfát) **formában oldódik**. Kihűlés után **az ammóniát** **fölös mennyiségben adott 33%-os NaOH-oldattal felszabadítjuk**, majd **hígítás után átdesztilláljuk, és kénsav- vagy bórsavoldatban felfogjuk** (34. ábra). A kénsavoldatban való felfogás esetén a titrálást nátrium-hidroxiddal, bórsavas elnyeletés esetén kénsavval végezzük. A Kjeldahl-féle roncsolás leírását az általános részben ismertettük, ezért itt csak az idézett fejezetben röviden említett desztillálást, a ledesztillált ammónia meghatározását, valamint a mindennapi gyakorlatban használt Kjel-Foss- és Kjeltec-automaták működtetését ismertetjük, felhíva mindenkor a figyelmet a klasszikus módszer és az automatizált műszeres módszer közti különbségekre.



34. ábra. Mikro-Kjeldahl-desztilláló

A két előzőekben ismertetett módszer elvéből következik, hogy a Kjeldahl-féle roncsolást követő nitrogénmeghatározásnál a minta nitrát- és nitrittartalmát nem lehet meghatározni, tehát a Kjeldahl-nitrogén nem az összes nitrogéntartalmat jelenti. A Dumas-féle égetéssel viszont mind a nitritet, mind a

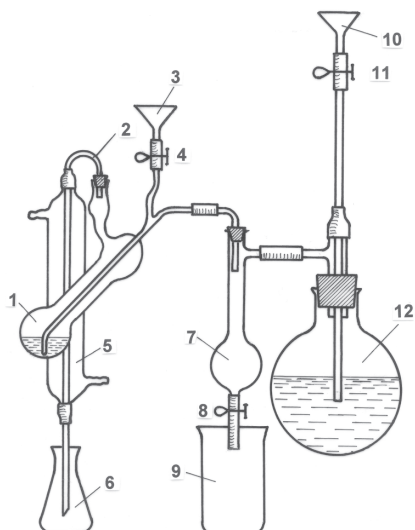
nitrátot meg lehet határozni az összes többi komponenssel együtt, tehát a Dumas-módszerrel az összes nitrogéntartalmat határozzuk meg. A két módszer közti elvi különbség tehát a nitritben és a nitrátban keresendő. Akár a Kjeldahl-, akár a Dumas-féle módszerrel történik a meghatározás, a nyersfehérje-tartalmat a nitrogéntartalomból általában 6,25-ös konverziós faktoriall történő szorzással számítjuk.

A roncsolásban képződött ammónia meghatározása és a fehérjetartalom számolása

A roncsolásban képződött ammóniát a gyakorlatban az alábbiak szerint desztilláljuk. A kb. 1 g légszáraz anyagból 25 cm³ kénsavval, oxidálószerrel, forráspontemelővel és katalizátorral kapott enyhén opálos, sárgásfehér színű anyagot lehűtjük, 300 cm³ csapvizet adunk hozzá, valamint néhány szem üveggyöngyöt vagy horzsakövet helyezünk a Kjeldahl-lombikba. A lombikot egy hűtővel és feltéttel ellátott desztillálóállványra helyezzük, a feltét végén eltávozó desztillátumot pedig egy titrálólombikba vezetjük úgy, hogy a hűtőcső vége beleérjen az ammónia megkötésére szolgáló folyadékba. A titrálólombikba helyezhetünk néhány csepp kongóvörös indikátort vagy metilvörös-metilénkék keverékindikátort, 30–40 cm³ desztillált vizet, valamint a várható nitrogéntartalomtól függően 20–100 cm³ 0,1 M-os kénsavat. Egy másik módszer szerint az ammónia megkötésére a kénsav helyett használhatunk 150–250 cm³ 4%-os bórsavat is. A bórsav az ammóniát megköti, de az ammóniatartalom meghatározását 0,1 M-os kénsavval történő titrálás során nem zavarja. A titrálólombik felhelyezése után a roncsolmányt tartalmazó Kjeldahl-lombikba kb. 100 cm³ 33%-os NaOH-ot, vagy ha hiány volt a katalizátor, nátrium-tioszulfátos NaOH-oldatot öntünk, és azonnal összekapcsoljuk a desztillálófeltéttel. A vízgőzzel történő desztillálást addig folytatjuk, amíg a szedőlombikban a desztillátum térfogata annak 75%-át el nem éri.

Ha 1 M-os kénsavat használtunk az ammónia megkötésére, akkor a kénsav feleslegét 0,2 M NaOH-oldattal titráljuk kongóvörös indikátor mellett a vörös színig, keverékindikátor esetében pedig míg annak vörös színe zöldes-szürkére nem változik. Ha a szedőfolyadék bórsav volt, a titrálást 0,1 M kénsavval végezzük metilvörös-metilénkék keverékindikátor jelenlétében, míg annak zöld színe pirosas-szürkébe nem csap át. A Parnas-féle desztillálókészülék összeállítását a 35. ábra mutatja.

A vegyszerek tisztaságának, a mérőoldat pontosságának, illetve a roncsolás teljességének ellenőrzését minden esetben elvégezzük. A vegyszerek nitrogéntartalmát 2 g szacharóz szokásos módon történő elroncsolása utáni nitrogéntartalom meghatározásával ellenőrizzük. A vakpróba eredményével a minták tényleges nitrogéntartalmát korrigáljuk. A mérőoldat pontosságát könnyen roncsolódó, analitikai tisztaságú anyagok (acetanilid, karbamid) nitrogéntartalmának meghatározásával végezzük. A Kjeldahl-roncsolás teljességét rendkívül nehezen roncsolható analitikai tisztaságú anyagok (triptofán, nikotinsav) nitrogéntartalmának meghatározásával vizsgáljuk.



(1. desztillálólombik, 2. kvarccső-csatlakozás, 3. tölcser, 4. szorító-csap, 5. vízhűtő köpeny, 6. gyűjtőpohár, 7. kondenzvízgyűjtő, 8. szorító-csap, 9. gyűjtőpohár, 10. tölcser, 11. csap, 12. gőzfejlesztő lombik)

35. ábra. A Parnas-féle ammóniadesztilláló készülék

Az eredmények kiszámítása és kifejezése

Az ammónia által megkötött 0,1 M kénsav cm^3 -eit megkapjuk, ha a szedőbe helyezett 0,1 M kénsav cm^3 -eiből levonjuk a kénsav visszatitrálására fogyott 0,2 M NaOH cm^3 -eit. A nitrogéntartalmat a következő képlettel számoljuk és tömeg %-ban fejezzük ki:

$$\text{nitrogén \%} = \frac{(S - L) \cdot 0,0028016 \cdot 100}{b},$$

ahol: S = a szedőlombikba tett 0,1 M H_2SO_4 (cm^3),
 L = a kénsav visszatitrálására fogyott 0,2 M NaOH (cm^3),
 b = a bemért anyag tömege (g),
 0,0028016 = az 1 cm^3 0,1 M-os kénsavnak megfelelő nitrogéntartalom mennyisége (g).

Ha bórsav volt a szedőfolyadék, akkor a nitrogéntartalmat a következő képlettel számolhatjuk:

$$\text{nitrogén \%} = \frac{S \cdot 0,0028016 \cdot 100}{b},$$

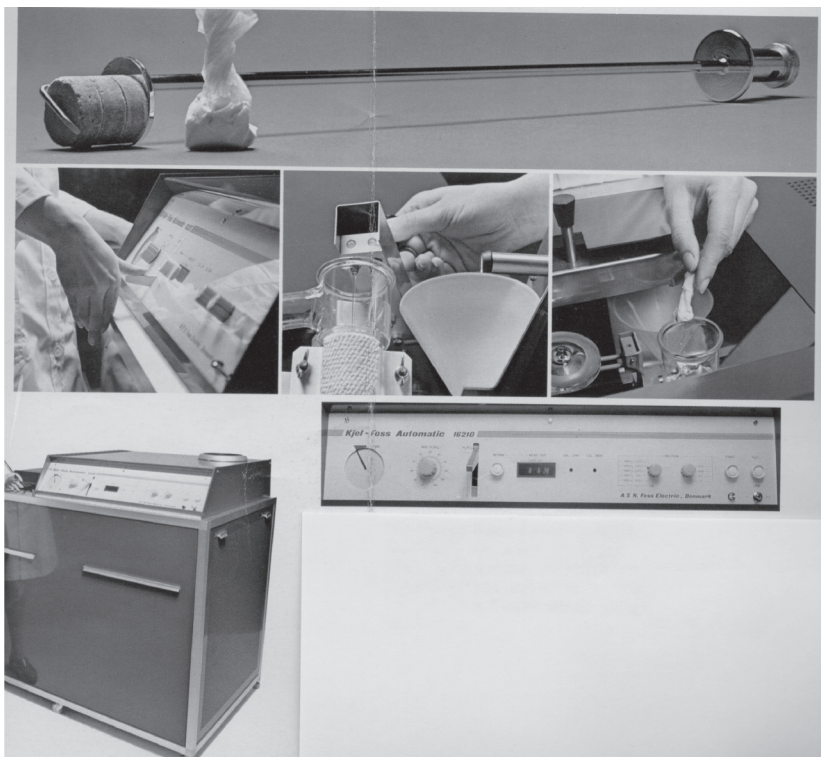
ahol: S = a titrálásra fogyott 0,1 M-os kénsav (cm^3),
 b = a bemért anyag tömege (g).

A nyersfehérje-tartalmat a nitrogén% 6,25 konverziós faktorral történő megszorítása után kapjuk meg.

3.3.1.5. Kjell-Foss-automata a nitrogéntartalom meghatározására

A Kjell-Foss gyors nitrogénelemző élelmiszerek nyersfehérje-tartalmának gyors meghatározására szolgál a Kjeldahl-módszer alapján. A munkamenet egyezik a hagyományos Kjeldahl-módszerével. A munkafolyamat gyors végrehajtását speciális technikák segítik úgy, hogy az első minta bevitelétől az eredmény kijelzéséig mindösszesen csak 15 perc szükséges, ezt követően pedig minden három percben a készülék újabb és újabb analízis elvégzésére képes. A Kjell-Foss-automatának (36. ábra) a standard módszerhez hasonlóan a következő munkafolyamatokai vannak:

- savas roncsolás,
- hűtés,
- hígítás vízzel,
- vízgőz-desztilláció és az ammónia titrálása,
- nyersfehérje-tartalom számítása.



36. ábra. Kjell-Foss gyors nitrogénelemző (A katalizátor behelyezése és a minta nitrogénmentes papírban, a hidrogén-peroxid és a tömény kénsav adagolása, a minta behelyezése a Kjeldahl-lombikba, a készülék és a vezérlőpult)

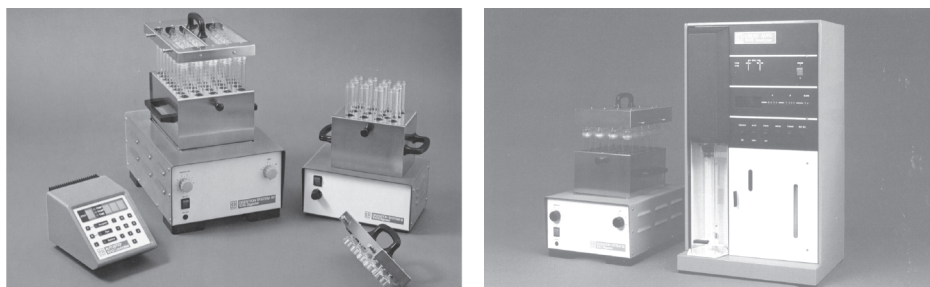
A készülék hat speciális Kjeldahl-lombikkal dolgozik, amelyek hárompercenként az óramutató irányába 60°-kal elfordulnak. Az 1-es helyzetben lévő lombikba helyezük be a kálium-szulfát forráspontemelőt, a higany-oxid-katalizátort, a roncsolást végző kénsavat, az oxidációt elősegítő hidrogén-peroxidot, és végül a lombikba helyezük a nitrogénmentes selyempapírba (bemérő papír) csomagolt 0,5–1 g tömegű mérendő anyagot. A 2-es helyzetben a lombik alatt meggyullad a roncsoló lángja, és a minta három percen keresztül forr. A roncsolás során keletkező gőzök és gázok egy szívócsövön keresztül elnyelődnek és vízsugárszivattyú segítségével távoznak. Három perc elteltével a rendszer újabb 60°-os fordulatot tesz meg. A 3-as helyzetben a roncsolás újabb három percen keresztül folytatódik. A rendszer következő fordulatával a 4-es helyzetű hűtőhelyre kerül, ahol egy nagy teljesítményű ventilátor szobalevegővel hűti a lombikot. E pozíció végén a mintát a készülék mintegy 140–150 cm³ vízzel meghígítja, majd az 5-ös helyzetbe kerül a minta, ahol a kénsav közömbösítésére és a higanykatalizátor megkötésére nátrium-tioszulfátot tartalmazó NaOH-oldat keveredik a mintával, és megkezdődik az ammónia vízgőz-desztillációja.

Az ammóniatartalmú vizes oldat egy hűtőn keresztül kondenzálódik, majd egy titráló pohárba kerül, ahol az automatikusan adagolt metilvörös-metilénkék indikátoroldattal elegyedik. A lecsepegő ammóniatartalmú oldatot egy automata titrálóberendezés titrálja, mely automata fecskendőjének dugattyúját a titráló pohár alatt lévő fotocella szabályozza. A fotocella észleli az indikátor színváltozását, és annyi savmennyiséget továbbít a titráló pohárba, amely mindig arányos a jelen levő ammónia mennyiségével. A titrálókészülék dugattyúját mozgó tengely egy potenciométerhez csatlakozik, amelynek segítségével az ammóniával arányos elmozdulás háromjegyű digitális kijelzés formájában jelenik meg a készülék oldalán. A kijelzés lehet nitrogén% vagy nyersfehérje%, és a készülék lehetőséget biztosít a különféle konverziós faktor alkalmazására is.

Az ammóniameghatározást követően három perc múlva a lombik a 6-os helyzetbe kerül, ahol sűrített levegő segítségével a rendszer saját magát kiüríti, kitisztítja. A kitisztítás után a lombik az 1-es helyzetbe fordulva kész újabb minta meghatározására. A műszer teljesítménye 15 perces indulószakasz után hárompercenként egy analízis, azaz óránként 20 minta. A mérés pontossága megegyezik a hagyományos Kjeldahl-módszerével. A módszer különösen alkalmas nagyszámú minta gyors sorozatvizsgálatára. Mivel a roncsolás és az ammónia vízgőz-desztilláció ugyanabból a lombikból történik hígítás és egyéb manipuláció nélkül, a készülék különösen alkalmas inhomogén vagy nehezen homogenizálható minták mérésére is. A készülékkel folyadékok (tej, vizelet, testnedvek) nitrogéntartalmát is meg lehet határozni, melynek során a bemérés pipettával történik.

3.3.1.6. Tecator Kjelttec-fehérjemeghatározó

A Kjelttec-fehérjemeghatározó ugyancsak élelmiszerek nyersfehérje-tartalmának gyors meghatározására szolgál a Kjeldahl-módszer alapján (37., 38. ábra). Az analitikai laboratóriumokban e készülékkel váltották fel a korábban rendkívüli módon elterjedt és közkedvelt Kjel-Foss gyors nitrogénelemzőt. A készülék kifejlesztését az egészségre és környezetre rendkívül veszélyes higany-oxid-katalizátor réz-szulfáttal, illetve szelénrel való kiváltása indokolta. A munkafolyamat lépései teljesen megegyeznek a klasszikus Kjeldahl-módszerével, illetve a Kjel-Foss ismertetésében leírtakkal, azaz: savas roncsolás, hűtés, vízgőz-desztilláció és az ammónia titrálása, a nyersfehérje-tartalom számítása.



37. ábra. A Tecator Kjelttec-fehérjeanalizátor roncsolórendszere és a Tecator alapkészüléke

A készülék szakaszos működésű, blokkroncsolóból és desztilláló-titráló részből áll. A roncsoló a fűtőblokkból, a roncsolócsövekből és az ezeket tartó állványból, valamint az elszívófeltétből áll, amely vízsugárszivattyúhoz csatlakozik. A roncsolásnál az őrölt és homogenizált szilárd mintából a nyersfehérje-tartalomtól függően 0,50–1,00 g-ot, nyershúsból 1,00 g-ot, tejből 1 cm³-t, vizeletből 2,0–5 cm³-t mérnek be a 250 cm³-es roncsolócsőbe. Hozzáadnak két darab Kjeltab Se 3,5 tablettát, amely tablettánként 3,5 g K₂SO₄ forráspontemelőt és 3,5 mg szelénkatalizátort tartalmaz, vagy 2 db Kjeltab Cu 3,5 tablettát, amely 3,5 g K₂SO₄-ot és 0,4 g CuSO₄ · 5 H₂O-t tartalmaz, és 13 cm³ analitikai tisztaságú, koncentrált kénsavat. A minta minőségétől függően különböző mennyiségben az oxidációt elősegítő hidrogén-peroxidot is adnak hozzá, ami szilárd minták esetében 1–5 cm³, tejmintáknál 1 cm³, húsmintáknál 7 cm³. Ezt követően a csöveket behelyezik az előzetesen 420 °C-ra felfűtött roncsolóblokkba, ráhelyezik az elszívófeltétet, és elindítják a vízsugárszivattyút, melynek segítségével távoznak a roncsolás során keletkezett gázok és gőzök a rendszerből. A roncsolás 420 °C-on, egy órán keresztül történik, majd a roncsolóból kivett csöveket lefedve lehűtik. A hűtés után következik a vizsgálat második szakasza, a desztillálás és a titrálás.



38. ábra. Félautomata Tecator-fehérjemeghatározó

A Kjeltec 2400 berendezés alsó szintjén helyezték el a reagenseket tartalmazó tartályokat, a középső részben az automatikus mintaadagoló található, ahol három tartóállvány van 60 db roncsolócső, illetve minta elhelyezésére, a felső részben pedig a desztilláló- és titrálóegység, valamint a folyamatok programozására szolgáló rész helyezkedik el. A mérés a reagensek betöltésével, a mintatartó állványok elhelyezésével és a készülék programozásával indul. A program szabja meg, hogy az egyes reagensekből milyen sorrendben és mennyit adagoljon a készülék, valamint azt, hogy mennyi ideig történjen a desztillálás és a titrálás. A programozás során megadják a minta sorszámát, a bemért mennyiséget, a minta helyét a titrálóberendezésben és azt, hogy az eredményt milyen mértékegységben számolja a készülék. Az analízis üzemmódban a készülék az első állványban lévő első csövet emelő segítségével a desztillálóegységbe helyezi, egy pumpa 30 cm^3 1%-os bórsavban oldott brómkrezolzöld–metilvörös indikátort adagol a titrálóedénybe, ezzel egy időben egy másik pumpa 30 cm^3 desztillált vizet juttat a roncsolócsőbe. Ezt követően 60 cm^3 33%-os nátrium-hidroxidot adagolnak a roncsolócsőbe, ami egyrészt megköti a kénsavat, másrészt felszabadítja sójából az ammóniát. A gőzszelep késleltetve nyit, gőz áramlik a roncsolócsőbe, és elindul a desztillálás. Az ammóniatartalmú gőz a kondenzátorban lecsapódik és a titrálóedénybe jut, amely a bórsavban oldott indikátort tartalmazza. A desztilláció alatt az indikátor színének megfelelően (zöldről rózsaszínre vált) egy automata büretta 0,1 M kénsavat adagol a titrálóedénybe mindaddig, amíg a zöld szín rózsaszínre nem vált. A desztilláció addig folyik, amíg az indikátor színe folyamatos rózsaszínné nem alakul. Ezt követően az ürítőszelep kinyit, a titrálóedény kiürül és a gőzszelep lezár. Kinyit a roncsolócső ürítőszelepe is, és a desztillációs maradvány a katalizátorral együtt a gyűjtőtartályba ürül. Az eredmény megjelenik a

kijelzőn, a nyomtatón és szükség szerint a memóriában is tárolható, ezt követően a következő roncsolócső felemelésével megkezdődik az újabb minta elemzése. **A nitrogéntartalom számítása a következő:**

$$N\% = \frac{(F - B) \cdot 1,401 \cdot M}{\text{bemérés(g)}},$$

ahol: $F = 0,1$ M kénsavoldat fogyása a mintára (cm^3),

$B = 0,1$ M kénsavoldat fogyása a vakra (cm^3),

$M =$ a kénsavoldat (mol/dm^3) koncentrációja.

A nyersfehérje-tartalmat a nitrogénszázalék konverziós faktoral való beszorzásával számolják. A készülék ellenőrzését $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ elemzésével végzik, a roncsolás hatásfokának ellenőrzésére pedig a nikotinsav vagy a triptofán nitrogéntartalmát határozzák meg. Az eredményt a vizsgálatot kérő igényeinek megfelelően nitrogénszázalékban, nyersfehérje-százalékban vagy más mértékegységben adják meg.

3.3.1.7. A valódifehérje meghatározása

Élelmiszerek valódifehérje-tartalmát Barnstein módszere szerint határozzuk meg. A meghatározás során mindazokat a nitrogéntartalmú anyagokat (amidok, aminosavak, ammónia stb.), amelyek nem fehérjéhez kötöttek, úgy távolítjuk el, hogy a tiszta- vagy valódifehérjét (a tiszta és a valódi ugyanazt jelenti, egymásnak szinonimái) réz-szulfáttal és nátrium-hidroxiddal kicsapjuk, a keletkezett fehérjecsapadékról az egyéb nitrogéntartalmú anyagokat leszűrjük, a csapadékot bő vízzel többször kimossuk, majd a csapadék nitrogéntartalmát Kjeldahl szerint meghatározzuk.

A vizsgálati eljárás során a várható fehérjetartalom függvényében 1–2 g finomra őrölt, légszáraz anyagot 250 cm^3 -es Griffin-pohárban 100 cm^3 desztillált vízzel felforralunk. Keményítődús anyagokat a desztillált víz hozzáadása után, a forralás előtt 30 percig 50°C -os vízfürdőn melegítjük, mert különben az elegy nem vagy nehezen szűrhető. Felforralás után 250 cm^3 6%-os réz-szulfát-oldatot, majd üvegbottal való keverés közben pár cm^3 -es adagokban 25 cm^3 1,25%-os nátronlúgot öntünk az elegyhez. A maradék leülepedése után a folyadék tisztáját nitrogénmentes szűrőpapíron átszűrjük, majd a csapadékot háromszori dekantálással, forró desztillált vízzel átmossuk. Ezután az egész csapadékot kvantitativ a szűrőre visszük, és ott addig mossuk, amíg a szűrlet bárium-kloriddal szulfátreakciót nem ad. A szulfácionok 600 cm^3 forró desztillált vízzel való mosás után már biztosan eltávoztak. A szűrést követően a szűrőpapírt a csapadékkal együtt hengerformára csavarva Kjeldahl-lombikba tesszük, és a nitrogéntartalmat meghatározzuk. A valódifehérje-tartalom meghatározását a nyersfehérje-tartalom meghatározásához hasonlóan végezzük. A kénsavas roncsolást követően meghatározott ammóniatartalomból az alábbi képlettel számoljuk a valódifehérje-tartalmat:

$$\text{valódifehérje-tartalom \%} = \frac{(S - L) \cdot 0,0028016 \cdot 6,25 \cdot 100}{b},$$

ahol: S = a szedőlombikba tett 0,1 M H₂SO₄-oldat (cm³),
 L = a titráláshoz fogyott 0,2 M NaOH-oldat (cm³),
 0,0028016 = az 1 cm³ 0,1 M H₂SO₄-oldatnak megfelelő nitrogén tömege (g),
 6,25 = az 1 g nitrogénnek megfelelő fehérje tömege (g),
 b = a bemért anyag tömege (g).

3.3.1.8. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása

3.3.1.8.1. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása in vitro pepszines hidrolízissel

A módszer alkalmas állati és növényi eredetű élelmiszerek emészthető nyersfehérje-tartalmának meghatározására. Az eljárás során a vizsgálandó mintát sósavas *pepszinoldatban* szuszpendáljuk, és 39–40 °C-os hőmérsékletű termosztátba tesszük 48 órára. A sósavas *pepszinnel* oldatba vitt fehérje mennyiségét a szuszpenzió szűrletéből Kjeldahl módszerével határozzuk meg.

A vizsgálati eljárás során a 10%-nál nagyobb zsírtartalmú élelmiszert a sósavas *pepszinnel* történő emésztés előtt zsírtalanítani kell. Ezt követően az előkészített vizsgálati anyagból 2 g-ot mérünk be egy 500 cm³-es Stohman-lombikba, hozzáadunk 0,83 g *pepszint*, és körkörös mozdattal összekeverjük. Hozzáadunk néhány cm³ 39 °C-os hőmérsékletű 0,075 M-os sósavoldatot, és ismételt körkörös mozdulattal a lombikban lévő anyagokat szuszpendáljuk úgy, hogy a minta teljes mennyisége átnedvesedjen, majd ezt követően a sósav térfogatát 450 cm³-re egészítjük ki. Ezután a lombikot vattával bedugjuk, és 39 °C-os hőmérsékletű termosztátba helyezzük 48 órára, amely időtartam alatt naponta többször, körkörös mozdattal a lombik tartalmát összekeverjük. 48 óra múlva a lombikot a termosztátból kivesszük, és 15 cm³ 25%-os HCl-oldatot töltünk rá, 20 °C-ra lehűtjük, majd jelig töltjük desztillált vízzel. A lombik tartalmát alaposan összerázzuk, szűrjük, a szűrlet aliquot részéből a nyersfehérje-tartalmat Kjeldahl módszerével meghatározzuk. A vizsgálat során vakpróbát is végzünk, amikor a mesterséges emésztést a minta nélkül, csupán az eljáráshoz használt vegyszerekkel végezzük el. A vakpróba emészthető nyersfehérje-tartalmára kapott értéket le kell vonni a minta emészthető nyersfehérje-tartalmának értékéből.

Az emészthető nyersfehérje-tartalom kiszámításánál a nyersfehérje-tartalom meghatározásánál ismertetett módszer szerint kell eljárni:

$$\text{emészthető nyersfehérje-tartalom \%} = \frac{(S - L) \cdot 0,0028016 \cdot 6,25 \cdot 100}{b},$$

ahol: S = a szedőlombikba tett 0,1 M H₂SO₄-oldat (cm³),

L = a titráláshoz fogyott 0,2 M NaOH-oldat (cm^3),
 $0,0028016$ = az 1 cm^3 0,1 M H_2SO_4 -oldatnak megfelelő nitrogén tömege (g),
 $6,25$ = az 1 g nitrogénnek megfelelő fehérje tömege (g),
 b = a bemért anyag tömege (g).

A kapott eredményt a hígítással korrigálva kapjuk meg az élelmiszer, illetve emészthető nyersfehérje-tartalmát.

3.3.1.8.2. Az emészthető nyersfehérje-tartalom meghatározása in vitro pepszin-tripszin-hidrolízissel

A mintát *pepszinnel*, majd *tripszinnel* hidrolizáljuk, majd az emészthetetlen maradék nitrogéntartalmát Kjeldahl szerint meghatározzuk. A módszer alkalmas állati és növényi eredetű élelmiszerek fehérjeemészthetőségének meghatározására. Az eljárást elsősorban növényi eredetű fehérjék, levélfehérje-koncentrátumok in vitro emészthetőségének meghatározására használják.

A vizsgálati eljárás során 1 g vizsgálandó anyagot centrifugacsőben 20 cm^3 0,1 M sósavban szuszpendálunk, majd $0,1 \text{ cm}^3$ 0,01 M sósavban szuszpendált 50 mg *pepszinnel* összekeverjük. A keveréket 37°C -on 48 órán át enyhén rázatjuk, majd centrifugáljuk. Az üledéket 10 cm^3 desztillált vízben szuszpendáljuk, és 0,1 M 8,0 pH-jú nátrium-foszfát puffert és 5 mg *tripszint* adunk hozzá. A keveréket 23°C -on 16 órán át gyengén rázatjuk, majd centrifugáljuk. Az üledéket $5 \times 30 \text{ cm}^3$ vízzel újra szuszpendáljuk, majd centrifugáljuk, és a felülúszót minden lépés után elöntjük. Az utolsó $20\,000 \text{ g-n}$ 5 percig végzett centrifugálás után a szilárd maradékot nitrogénmentes szűrőpapíron szűrjük, levegőn megszáritjuk, majd Kjeldahl szerint meghatározzuk nitrogéntartalmát. A fehérje emészthetőségét %-ban az alábbi képlet alapján számoljuk:

$$\text{a fehérje emészthetősége \%} = \frac{(a - b) \cdot 100}{a},$$

ahol: a = a minta nitrogéntartalma,

b = a minta emészthetetlen részének nitrogéntartalma.

Esetenként a *tripszin* helyett *pankreatint* használnak, és a fehérje *pepszin-pankreatin*-hidrolízist követő emészthetőségét határozzák meg.

3.3.1.8.3. A multienzimes módszer a fehérje in vitro emészthetőségének megállapítására

Az előző két pontban ismertetett módszer szerint a fehérje in vitro emészthetőségét egy, illetve két enzimmel határozzák meg. Újabban három vagy több enzimet használnak a fehérje in vitro emészthetőségének meghatározására, amely eljárásokat multienzimes módszereknek nevezik. A multienzimes módszerekkel a fehérje emészthetősége pontosabban meghatározható, mint az egy vagy két enzim használatát előíró eljárások esetében.

A vizsgálati eljárás során 1 g légszáraz, megfelelő méretűre őrölt élelmiszert mérünk be egy 100 cm³-es centrifugacsőbe, és 25 cm³ sósavas *pepszinoldatot* adunk hozzá (3 g *pepszint* oldunk 500 cm³ 0,15 mol/dm³ sósavoldatban), majd 90 percig 40 °C-on gyengén rázatjuk. Ezt követően 220 mg nátrium-hidrogén-karbonáttal a sósavat semlegesítjük, a centrifugacső tartalmához 25 cm³ *pankreatinoldatot* adunk (3 g *pankreatin*, 30 mg *lipáz*, 57 mg epesavas nátrium, 3 g *aminoglükózidáz* feloldva 750 cm³ 6,8 pH-jú foszfátpufferben), és 60 percig 40 °C-on inkubáljuk. Az inkubálás után 5 cm³ 10%-os nátrium-karbonátot adunk hozzá, és 5000 g-n 15 percig centrifugáljuk. Az üledéket 25 cm³ desztillált vízzel átmosva szuszpendáljuk, majd a felülúszóval együtt molnár selyemszítán átszűrjük. Desztillált vízzel történő többszöri átmosás után a szűrőn visszamaradt csapadék nitrogéntartalmát Kjeldahl szerint meghatározzuk. Az emésztési együtthatót az emészthetetlen fehérjetartalom alapján a következő képlettel számoljuk ki:

$$Em E_{nyfeh} = 100 - \left(\frac{A}{B} \right) \cdot 100,$$

ahol: $Em E_{nyfeh}$ = a vizsgált minta nyersfehérje-tartalmának emésztési együtthatója,

A = a csapadék nyersfehérje-tartalma (%),

B = a vizsgált élelmiszer nyersfehérje-tartalma (%).

A módszer elsősorban gabonamagvakból készült élelmiszerek in vitro fehérjeemészthetőségének meghatározására alkalmas. Összetett keverékek esetén az in vitro és az in vivo emésztési együtthatók között az összefüggés rendkívül szoros. Az extrahált mintáknál szorosabb összefüggés és pontosabb eredmények érhetők el, ezért célszerű az élelmiszermintákat a vizsgálatok megkezdése előtt zsírtalanítani.

3.3.1.8.4. A fehérje in vitro emészthetőségének meghatározása *pankreatinos* hidrolízissel és aminosav-analízissel

A módszer alkalmas állati és növényi eredetű élelmiszerek fehérjei in vitro emészthetőségének meghatározására. Az eljárás során *pankreatinnal* 37 °C-on 15 órán át hidrolizáljuk a fehérjét, majd mérjük a lehasadó aminosavak mennyiségét ioncserés oszlopkromatográfiával.

A vizsgálati eljárás során a 10%-nál nagyobb zsírtartalmú mintát éterrel vagy petroléterrel extraháljuk, majd meghatározzuk a nitrogéntartalmát. A 200 mg fehérjének megfelelő mintát 15 órán át 37 °C-on 100 mg *pankreatin* és 10 cm³ 8,2 pH-jú foszfátpuffer elegyével inkubáljuk, amelynek során az elegyet 20 cm³-es Erlenmeyer-lombikban mágneses keverőn állandóan keverjük. Ezt követően 10 cm³ hidrolizátumhoz 5 cm³ 20%-os cink-szulfát-oldatot és 5 cm³ 1%-os nátrium-hidroxid-oldatot adunk, amelynek következtében az oldott állapotú hidrolizátatlan fehérjék és peptidok a keletkező cink-hidroxiddal kicsapódnak. Az elegyet szűr-

jük, majd a szűrlethez 1 cm^3 1%-os kénsavat és 4 cm^3 2,2 pH-jú citrátpuffert adunk. Ebből az oldatból az aminosav-analizátor érzékenységétől függően 0,1– $1,0\text{ cm}^3$ -nyi mennyiséget használunk fel az aminosav-tartalom meghatározására.

A minta eredeti aminosav-összetételét alapul véve kiszámíthatjuk a *pankreatinos* hidrolízis során felszabaduló aminosavak százalékos mennyiségét. Az eredeti aminosav-tartalom %-ában kifejezett felszabaduló aminosav-mennyiséget biológiailag hasznosítható aminosav-tartalomnak tekintjük. A módszer alkalmas a fehérje károsodásának nyomon követésére, a hőkezelések és egyéb technológiai paramétereknek az aminosavak hasznosíthatóságára gyakorolt hatásának mérésére.

3.3.1.9. Fehérjetartalom-meghatározás spektrofotometriás módszerekkel

3.3.1.9.1. Ultraibolya spektrofotometriás módszerek

A legtöbb fehérjének a **280 nm hullámhosszon** az ultraibolya-tartományban **fényelnyelési maximuma van**, amely a fehérjék tirozin-, fenilalanin- és triptofántartalmára vezethető vissza. A különböző fehérjék aromásaminosav-tartalma viszonylag szűk határok között változik, ezért ezek fényelnyelése felhasználható a fehérje mennyiségének meghatározására. A módszer előnye a **rendkívüli érzékenység**, továbbá az, hogy **reagens nélkül lehet végezni a meghatározást**. Oszlopkromatográfiás elválasztások során az UV-abszorpciót használjuk fel a fehérjekoncentráció folyamatos mérésére. A mérést a nukleinsavak, a purin- és a pirimidinbázisok, valamint a purin- és pirimidingyűrűt tartalmazó vegyületek 260 nm körüli erős UV-abszorpciója zavarja, ezért különböző nukleinsav-fehérje keverékek elemzése során **korrekciókat dolgoztak ki a nukleinsavak okozta fehérjemeghatározási hiba kiküszöbölésére**. Kis nukleinsav-tartalom esetében a 280 nm-en mért fényelnyelés alapján a $10\text{--}1000\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^3$ méréshatárok között lehet a tiszta, nem zavaros fehérjeoldatok koncentrációját meghatározni. A méréshez olyan UV-detektor szükséges, amely 280 nm vagy ez alatti hullámhosszat tud szelektálni. A fehérje meghatározásánál azt is figyelembe kell venni, hogy a fehérjeanalitikában használt számos oldószernek jelentős UV-abszorpciója van a fehérjék 280 nm-es elnyelési sávjában. Az elektronikus úton való háttérkompenzálás csökkenti a mérés érzékenységét, gradienselúció esetén való meghatározásnál viszont, mivel az abszorpció folyamatosan változik, a háttérkompenzálás elektronikus úton nem lehetséges. A nukleinsavak zavaró hatása miatt olyan fehérjemérési módszereket is kidolgoztak, amelyeknél a 280 nm-nél rövidebb hullámhossztartományban jelentkező fényelnyelést mérik. **Használhatják a 220–240 nm-en mért fényelnyelést a fehérje meghatározására** annak ellenére, hogy ebben a tartományban a fehérjének nincs abszorpciós maximuma, a nukleinsavaknak viszont abszorpciós minimumuk van. Ebben a hullámhossztartományban nemcsak a tirozin és a triptofán, hanem a fenilalanin, a metionin, a cisztein és cisztin, továbbá a peptidkötés

185 nm-es fényelnyeléséből összegződik a mért extinkció. Az eljárással 5–180 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ fehérjét lehet meghatározni. Ezekon a hullámhosszakon a ribonukleinsavak zavaró hatását még hatékonyabban lehet kiküszöbölni.

A fehérjék és a peptidek UV-abszorpciót mutatnak a **191–194 nm közötti tartományban** is. Ebben a tartományban azért előnyös a fehérje- vagy peptidtartalmat mérni, mert az UV-abszorpció független az aromás aminosavak mennyiségétől, így **a fényelnyelés csaknem független a fehérje vagy peptid minőségétől**. A módszer hátránya, hogy optikailag igen kiváló minőségű, nagy érzékenységgű spektrofotométert és jó méréstechnikai feltételeket kíván, mert a rövid ultraibolya-tartományban a szórófény-effektus nagyon megváltoztathatja a mérések eredményeit. Ebben a mérési tartományban 40–80-szor nagyobb érzékenységet lehet elérni, mint a hagyományos, 280 nm-en mért fényelnyeléssel.

3.3.1.9.2. Spektrofotometriás módszerek a látható fény tartományban

A fehérjék színreakciója valójában az őket felépítő aminosavak színreakcióira vezethető vissza. A fehérjék kimutatására használható színreakciók közül csak kevés használható mennyiségi analízis céljaira. A legfontosabbak a biuret-reakció és a Folin–Ciocalteu-féle fenolreagenssel való színreakciók.

3.3.1.9.2.1. Biuret-módszer

A biuret-reakció során lúgos közegben a Cu^{2+} -ion négy peptid-nitrogénhez kapcsolódik. A $-\text{CONH}-$ csoporton kívül adják a reakciót a $-\text{CSNH}_2-$, a $-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2-$, a $-\text{CH}_2\text{NH}_2-$, a $-\text{CRH}\text{NH}_2-$, a $-\text{CHOHCH}_2\text{NH}_2-$, a $-\text{CHNH}_2\text{CH}_2\text{OH}-$, a $-\text{CHNH}_2\text{CHO}-$ csoportok és természetesen maga a biuret is ($\text{CONH}_2\text{NHCONH}_2$), amelyről a reakció a nevét kapta. Az ibolyaszínű rézkomplexnek a látható fény tartományban, az 540–560 nm között van abszorpciós maximuma, de a rézkomplex a közeli ibolyántúli tartományban, 310 nm-en is mérhető.

Gornall és munkatársai az alábbiak szerint állították elő és használták a biuret-reagenst: 1,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -t és 6 g $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ -t feloldunk 500 cm^3 vízben, 300 cm^3 10%-os karbonátmentes NaOH -oldatot adunk hozzá, majd vízzel 1 dm^3 -re hígítjuk. A reagens polietilén palackban, sötét helyen eltartható. 0,1% kálium-jodid hozzáadása megakadályozza a réz redukcióját, de nem befolyásolja a biuret-színreakciót. A meghatározás során 1 cm^3 1–10 mg/cm^3 -es fehérjeoldathoz 4 cm^3 biuret-reagenst adunk, összerázzuk, szobahőmérsékleten 30 percig állni hagyjuk, majd **540–550 nm hullámhosszon mérjük a fényelnyelést** 1 cm^3 víz és 4 cm^3 biuret-reagens keverékével szemben. A standard görbét marha szérumalbumin-oldattal készítjük. Ha nagyobb pontosságra van szükségünk, célszerű a vizsgálati anyagból Kjeldahl-módszerrel fehérjemeghatározást végezni, és erre vonatkoztatni a meghatározást. Mivel a nem-fehérje nitrogén is reagál a biuret-reagenssel, ezért a meghatározást triklór-ecetsavas kicsapás után a csapadék lúgos oldatából célszerű elvégezni.

A kisebb molekulatömegű, biuret-reakciót adó, nem fehérjeszerű vegyületektől és egyéb zavaró anyagoktól a biuret-reakcióban keletkező fehérje-réz komplexet Sephadex G-25 oszlopon is el lehet választani. Ezt követően a fehérje-réz komplexet $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}$ eleggyel roncsolják, meglúgosítják, majd **a rezet dietil-ditiokarbamáttal kolorimetrikusan meghatározzák**. Ez az eljárás azonos érzékenységgű a Lowry-féle módszerrel (lásd később), és tízszer érzékenyebb a 280 nm-es UV-abszorpción alapuló eljárásnál.

Egy másik módszer szerint a Sephadex gélen szűréssel elkülönített fehérje-réz komplexből roncsolással felszabadított **Cu^{2+} -ion-tartalmat a rézzel katalizált fenol-klóramin-T reakció alapján** a 410 nm-en mért abszorpcióból számítják. Ez a rézmeghatározási módszer mintegy ezerszer érzékenyebb, mint a réz atomabszorpciós spektrofotometriás meghatározása, a fehérjemeghatározás érzékenysége pedig ötszázszor nagyobb, mint a Lowry-féle eljárásé ($0,01\text{--}0,2\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^3$ fehérje).

A biuret-reakció fényelnyelése a közeli ibolyántúli tartományban 330 nm-en előnyösen mérhető, és itt a meghatározást nem zavarja a nukleinsavak vagy az ammóniumion jelenléte. A rézkomplex fényelnyelését 310 nm-es hullámhosszon is javasolják mérni, melynek során nukleinsavat nem tartalmazó oldatból $0,075\text{ mg}/\text{cm}^3$ -nél kevesebb, nukleinsav jelenlétében pedig $0,15\text{--}3\text{ mg}/\text{cm}^3$ fehérjét tudtak meghatározni. Ellman biuret-módszere 263 nm-nél méri az abszorpciót, az eljárás érzékenysége $0,01\text{ mg}/\text{cm}^3$, vagyis egy nagyságrenddel nagyobb, mint a látható tartományban mért abszorpció alapján meghatározható. Fehérjemeghatározást sok esetben közvetlenül a növényi vagy állati szövetkivonatból kell elvégezni. A kivonásra használt puffer vagy detergens zavarhatja a meghatározást, hisz ezek jelenlétében a biuret-reagens csapadékot ad a fehérjével. A csapadékot oldani lehet például propilénglikolban, és a fényabszorpció ilyenkor 330 nm hullámhosszon mérhető. A biokémiai reakciók során igen gyakran használt TRIS-puffer (tris[hidroxi-metilamino-metán]) jelenléte nem kívánatos a fehérjemeghatározásnál, mert mind a biuret-, mind a Lowry-féle fehérjemeghatározást zavarja. A puffer nitrogéntartalma miatt a Kjeldahl-féle fehérjemeghatározás is nehézkes, ezért inkább a biuret-kalibrálógörbéket különféle TRIS-koncentrációkkal felvéve határozzuk meg, hogy a puffer mennyivel növeli meg az extinkciós értékeket.

A biuret-reakció makro változatai jól használhatók különféle gabonaőrlemények fehérjetartalmának vizsgálatára is. Ennek során az alkalikus réz(II)-szulfát-oldat a fehérjének nemcsak reagense, hanem extrahálószer is. Jennings az alábbi módosított biuret-reagenssel vonta ki, illetve határozta meg a fehérjét.

900 cm^3 vízben feloldott 2 g kálium-nátrium-tartarátot és 15 cm^3 10 M kálium-hidroxidot, folyamatos keverés közben 30 cm^3 4% -os réz-szulfát-oldatot adott hozzá, majd az oldatot desztillált vízzel 1 dm^3 -re egészítette ki. A fehérjemeghatározás során 500 mg lisztet dugóval zárható extrakciós edénybe mért, ezt 2 cm^3 szén-tetrakloriddal megnedvesítette, majd 50 cm^3 módosított biuret-reagenst adott hozzá. Rázógépen hatvan percig rázatta, majd a szuszpenzió egy részét 3000 g-n $10\text{--}15$ percig centrifugálta. A tiszta felülúszó fényelnyelését 550 nm

hullámhosszon mérte 1 cm-es küvettában, a kalibrálógörbét pedig a Kjeldahl-nitrogénmeghatározás alapján szerkesztette meg. Búza- és árpaőrleményekkel végzett vizsgálatokkal megállapították, hogy a Kjeldahl-nitrogénértékek és az extinkció között igen szoros az összefüggés. Ezt a módszert többen módosították, elsősorban a biuret-reagens stabilitását célozva. A kálium-nátrium-tartarát helyett használtak glicerint, mások pedig finoman porított CuCO_3 alkalmazásával küszöbölték ki a reagens bomlékonyságát. Alkalikus vizes oldat helyett kálium-hidroxidra 0,1 M-os, 60%-os izopropil-alkoholt használva a gabonaőrlemények festékanyagai kevésbé oldódnak ki, így ezek fényelnyelése a biuret-reakciót nem zavarja.

3.3.1.9.2.2. Lowry-módszer

A biokémiai analitikában a legelterjedtebb fehérjemeghatározás a Lowry- (Folin–Lowry-) féle eljárás, amelynek alapja a fehérje biuret-reakciója alkalikus közegen Cu^{2+} -ionnal és a Folin–Ciocalteu-féle foszformolibdén–foszfor-wolfrámsav redukciója heteropoli-molibdénkékké, a fehérjekötésben lévő aromás aminosavak rézion katalizálta oxidációja közben. A Folin-féle fenolreagenst az alábbiak szerint készítjük:

100 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ -et, 25 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ -et feloldunk 700 cm³ vízben, majd 50 cm³ 85%-os H_3PO_4 -at és 100 cm³ tömény HCl-at adunk hozzá. Az oldatot kétliteres, normálcsiszolatos gömblombikban, hűtővel felszerelve 10 órán át forraljuk, majd 150 g lítium-szulfátot, 50 cm³ desztillált vizet és néhány csepp brómot adunk hozzá. 15 percig visszafolyó nélkül forraljuk, hogy a bróm feleslegét elűzzük, lehűlés után pedig desztillált vízzel egy literre töltjük fel. Barna folyadéküvegbe szűrjük. Használat előtt 1 M-os NaOH-dal fenolftalein indikátor jelenlétében meghatározzuk az aciditását, a fehérjemeghatározáshoz pedig az előírt koncentrációra hígítjuk. A standard görbék elkészítése során különböző hígításokkal 0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 és 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ koncentrációjú fehérjesorozatot állítunk elő bovin szérumalbumin frakcióból.

Az így előállított standardsorozat vagy a minta (ami optimális esetben 50–100 mg/100 cm³ fehérjét tartalmaz) 0,1 cm³-éhez 0,1 cm³ 2 mólos NaOH-ot adunk, 100 °C-on 10 percig fűtőblokkba vagy vízfürdőbe helyezzük, majd szobahőmérsékletre hűtjük. 1 cm³ frissen készített reagenst adunk hozzá, amely 100:1:1 térfogatszázalékos arányban tartalmazza a 2% nátrium-karbonát, az 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ és a 2% kálium-nátrium-tartarát-oldatot. Az alkalikus réz-tartarát reagenst elkészíthetjük úgy is, hogy 1,25 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -t és 3,375 g kálium-nátrium-tartarátot oldunk 100 cm³ desztillált vízben, majd ebből a törzsoldatból 1 cm³-t 2,5%-os Na_2CO_3 -oldattal 100 cm³-re hígítunk. Az oldatot mindig frissen kell készíteni. Az oldatot szobahőmérsékleten 10 percig hagyjuk állni, majd adjunk hozzá 0,1 cm³ Folin-reagenst, intenzíven keverjük össze, majd hagyjuk állni szobahőmérsékleten 30–60 percig, de az idő a 60 percet soha ne haladja meg. MÉRJÜK az oldat abszorpcióját 750 nm-en akkor, ha a fehérjekoncentráció 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ alatt volt, vagy 550 nm-en akkor, ha a fehérjekoncentráció 100–2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ között

volt. Szerkesszük meg az abszorbanciák alapján a kalibrációs görbét, amely már alkalmas az ismeretlen fehérjetartalmú minta fehérjetartalmának számítására. Ismeretlen fehérjetartalmú minta esetében 75–200 μg közötti fehérjét tartalmazó mintát 3 cm^3 0,5 M NaOH-ban oldunk, majd az oldatból 1 cm^3 -t pipetázunk egy körjeles kémcsőbe, 4 cm^3 alkalikus réz-tartarát reagenst adunk hozzá, összekeverjük, 10 percig állni hagyjuk, majd 1 cm^3 Folin-reagenst adunk hozzá erélyes keverés közben. A standard görbénél leírtaknak megfelelően szobahőmérsékleten állni hagyjuk, ha szükséges, centrifugáljuk, ezt követően pedig mérjük az oldat fényelnyelését a fehérjetartalomtól függően 750 vagy 550 nm-en. Ha a méréseket a hitelesítő görbe lineáris tartományában végezzük, a meghatározás hibája ± 2 –4%.

A Lowry-féle fehérjemeghatározást az oldatban lévő idegen anyagok, pufferek, detergensok, kelátképző anyagok, alkoholok, cukrok, poliszacharidok, pigmentek, nagyobb koncentrációban jelen lévő szulfhidrilok és szulfhidril-reagensek **erőteljesen zavarják**, és különleges eljárásokat kell alkalmazni a lipoproteinek fehérjetartalmának meghatározása során is. Megállapították, hogy különböző pufferek eltérő módon befolyásolják a Lowry-reakció érzékenységet, és csökkentik az érzékenységet a glicin, a glicil-glicin, a citrátok, a szukcinátok, a nátrium-dodecil-szulfát és a cukrok is. Ha ezek az anyagok állandó koncentrációban vannak jelen, akkor **zavaró hatásuk** az azonos körülmények között készített **vakoldattal kompenzálható**. Kimutatták, hogy a glicerín mind a Lowry-féle fehérjemeghatározás esetén, mind a biuret-reakció során lineárisan növeli a fényabszorpciót, amely zavaró hatás megfelelő referensoldattal kompenzálható. Vizsgálatok szerint a redukáló cukrok és a poliszacharidok közül nagyon sok reagál a Folin-reagenssel, és ezek a színreakciók nagymértékben zavarhatják a fehérjemeghatározást. Sokféle cukorral meghatározták az úgynevezett protein-egyenértéket, amelyet a fehérjemeghatározás során figyelembe kell venni. Lipoproteidek és proteolipidek fehérjetartalmának meghatározása során, mivel ezek a vegyületek vizes közegben nehezen oldódnak, a kioldást 37 °C-on, egy éjszakán át tartó lúgos kezeléssel vagy 100 °C-on 30 percen át végzett lúgos kezeléssel érik el. Egyes proteolipidek a lipidek eltávolítása után csapadékot is képezhetnek a Lowry-féle fehérjemeghatározás során, a lipoidok oxidációja során képződő bomlástermékek pedig reagálnak a Folin-reagenssel, megnövelve a fehérje mennyiségét.

Amennyiben nem fehérjeoldatból, hanem precipitált fehérjéből kell a meghatározást elvégezni, akkor a precipitátumot 2 mólos NaOH-ban oldjuk, és 100 °C-on 10 percig hidrolizáljuk. Teljes sejtek vagy komplex biológiai anyagok esetében a mintákat megfelelő módon elő kell készíteni a fehérjemeghatározáshoz, ami magában foglalhat például perklórsavas kicsapást, ami után a fehérje-csapadék már alkalmas a Lowry-féle fehérjemeghatározásra.

Egy másik eljárás szerint 1 cm^3 fehérjetartalmú mintához 0,1 cm^3 72%-os triklór-ecetsavat adnak, majd 1000–3000 g között 30 percig végzett centrifugálással az oldatból elkülönítik a kicsapott fehérjét, amely most már alkalmas a Lowry-féle meghatározásra. Mivel a detergensok, mint amilyen például a nátri-

um-dodecil-szulfát, gyakran jelen vannak azokban az oldatokban, amelyből fehérjemeghatározást kell végezni, ilyenkor a fehérje tökéletes kicsapására nemcsak triklór-ecetsavat, hanem foszfor-wolframsavat is alkalmaznak az alábbiak szerint:

1 cm³ fehérjetartalmú mintához hozzáadnak 0,2 cm³ 30 tömeg%-os triklór-ecetsav- és 6 tömeg%-os foszfor-wolframsav-oldatot, összekeverik, majd szobahőmérsékleten 20 percig állni hagyják, centrifugálják 4 °C-on, 2000 g-n, 30 percig, a felülúszót dekantálják, és a kapott csapadékból határozzák meg a fehérjét. A reakció rendkívüli módon függ a pH-tól, ezért ügyelni kell arra, hogy a pH 10,0–10,5 között maradjon a meghatározás során. **A Folin-reagenssel való reakció ideje nem túlzottan kritikus, a reakció gyakorlatilag 10 perc alatt tökéletesen végbemegy, de többórás várakozás sem befolyásolja lényegesen a fényelnyelést.** Nagyon kell ügyelni viszont arra, hogy a Folin-reagens és a minta keveredése gyors és tökéletes legyen, ugyanis a reagens lúgos körülmények között instabil, és bomlása növelheti a meghatározás hibáját. Amint már szó volt róla, a Lowry-módszer hibája, hogy nagyon sok anyag, például a pufferek, a drogok, a nukleinsavak és a cukrok zavarhatják a meghatározást. A zavaró hatások minimálisra csökkenthetők a minta hígításával úgy, hogy a fehérjekoncentráció még elég nagy legyen a hígítás után az optimális meghatározáshoz. A zavaró hatás kiküszöbölésére minden alkalommal zavaró anyagokat tartalmazó vakmintát kell készíteni. A detergenssek, a cukrok és az EDTA zavaró hatása kiküszöbölhető, ha a fehérje kicsapása során nátrium-dodecil-szulfátot is juttatunk a rendszerbe.

Ha a Folin-reagenst nem egyszerre, hanem két adagban adjuk a mintához, az 20%-kal megnövelheti az érzékenységet. Ha három perccel a Folin-reagens adagolása után ditiotreitet adunk a reakcióelegyhez, az érzékenység mintegy 50%-kal nő.

A Lowry-meghatározás során kapott **színes termék színintenzitása függ a fehérje aminosav-összetételétől**, ezért két különböző fehérje, amelyeknek koncentrációja 1 mg/cm³, különféle színintenzitást ad a meghatározás során. Figyelembe kell venni, hogy a bovin szérumalbuminnal felvett standard görbe csak közelítő meghatározást ad a fehérje koncentrációjára. Az **abszolút értéket** bármilyen fehérjére ezzel a módszerrel csak **akkor lehet meghatározni, ha a kalibrációs görbe is ugyanabból a fehérjéből készül**, mint amit a mintából meg akarunk határozni. A fehérjetartalom pontosabb meghatározására csak az aminosav-analízis alkalmas.

3.3.1.9.3. Fehérjetartalom-meghatározás festékkötéssel

A fehérjemolekula savanyú és bázisos csoportjai megfelelő kísérleti körülmények között a festék disszociált csoportjaival (legtöbbször szulfonsav csoportokkal) reakcióba lépnek, és velük oldhatatlan, színes csapadékot képeznek. A festékkötés mértékéből a fehérje mennyiségére lehet következtetni, ezért a módszer megfelelő körülmények között mennyiségi meghatározássá fejleszthető.

A szerves festékek közül előszeretettel alkalmazták fehérje meghatározására az **amidofekete 10B festéket** (C₂₂H₁₄N₆O₉S₂Na₂), amely savanyú közegben jól kö-

tődik a fehérjéhez, aminek alapján a fehérje mennyisége meghatározható. Folyadékok fehérjetartalmának meghatározása során a fehérjét ecetsavas metil-alkoholban amidofeketével megfestik, majd a centrifugálással eltávolított, megfestett csapadékot nátrium-hidroxidban oldják, és mérik a szín intenzitását. A fehérje festékkötéssel való meghatározása során egyrészt tesztelték azt, hogy a festék hogyan kötődik a különböző fehérjékhez, másrészt különböző fehérjéket próbáltak ki a meghatározások során. Megállapították, hogy **a festékkötés kevésbé specifikus**, mint a Lowry-féle módszer, ugyanis a vizsgált kilenc, különféle fehérje festékkötése nitrogénre számolva közel azonos volt. Az amidofeketét nemcsak folyadékban oldott fehérjék meghatározására, hanem különböző membránokon, illetve géleken elválasztott fehérjék festésére is használták. Megállapították, hogy az amidofekete abszorpciója a poliakrilamid gélben lévő fehérjéhez $1,5 \text{ mg/cm}^3$ -ig lineáris. A megkötött fehérje kvantitatíve festhető amidofeketével, és mennyisége denzitométerrel meghatározható. Az amidofeketen kívül használták még a **xilen-brillant-cianin G**, valamint az **orange G** és a **coomassie kék G 250** festékeket is a fehérje mennyiségi meghatározására.

Gabonaőrlemények fehérjetartalmának és a fehérje minőségének vizsgálatára az utóbbi években több gyors módszert is kidolgoztak. A festékkötési módszert a búzalisztfrakciók fehérjei bázisos és savas csoportjainak, illetve ezek arányának meghatározására használták. A bázisos csoportok festékkötését orange G 0,1%-os oldatával, a savas csoportok festékkötését pedig a safranin O 0,2%-os oldatával végezték. A festékkötés mérésére indirekt módszert alkalmaztak, azaz **nem a megkötött festéket, hanem a festék feleslegét mérték** a festékkoldat koncentrációjának csökkenéséből. Az orange G színét 472 nm-en, a safranin O színét pedig 452 nm-en mérték, ötvenszeres hígításban. Ebből a módszerből fehérjemeghatározási módszert fejlesztettek ki, amelynek lényege a következő:

600 mg liszthez 50 cm^3 -es polietilén centrifugacsőben 25 cm^3 orange G festékkoldatot adnak, amit a következők szerint állítanak elő: 100 mg finoman porított festéket oldanak 100 cm^3 vízben, amelynek pH-ját 2,2-re állítják be. A festékadagolás után a dugóval lezárt centrifugacsöveket 15 percig rázzák, miközben a fehérje pozitív töltésű csoportjai és a festék negatív töltésű csoportjai között a reakció teljesen végbemegy. Az oldhatatlan fehérje–festék komplexet és a liszt egyéb, nem oldódott komponenseit ötperces, 4000 fordulaton végzett centrifugálással különítik el a reakcióba nem lépett festékkoldattól, majd a felülúszó fényelnyelést 470 nm-en mérik. A festékkötés és a Kjeldahl-nitrogén közötti összefüggés erősen szignifikáns.

3.3.1.9.3.1. Bradford-módszer

Nagyon sok laboratóriumban elterjedt a fehérjék meghatározására a **Bradford-módszer**, amely a **coomassie kék G 250 festék és a fehérje közötti reakción alapul**. Ez a módszer egyszerűbb, gyorsabb és érzékenyebb, mint a Lowry-módszer, ráadásul nem zavarják a minta előállításánál használt reagensek és az

NPN-anyagok sem. A részletes vizsgálatok megállapították, hogy a festék három, különböző disszociált formában fordulhat elő, a funkciós csoportok pK_s -értékei 1,15; 1,82; 12,4. A savas oldatban domináns formák vörös és zöld színűek, amelyeknek fényelnyelési maximuma 470 és 650 nm-en van, a negatív töltésű kék forma, amely a fehérjéhez kötődik, 590 nm-en mutat abszorpciós maximumot.

A fehérjék mennyisége a kék színű, negatív töltésű festékekkel határozható meg, amelynek során a fényelnyelést 590 nm-en mérik. A festék az arginil- és lizil-oldalláncokhoz kötődik, ami a különböző fehérjék esetén az aminosav-tartalom függvényében különböző lehet. A módszer hátránya még az is, hogy érzékeny más vegyületek jelenlétére is. Többszöri módosítás után azonban elmondható, hogy a Bradford-módszer ma is **az egyik legnépszerűbb és legszélesebb körben alkalmazott fehérjeanalitikai módszer.** Az eredeti eljárás alkalmas 10–100 μg közötti fehérje mennyiségének mérésére, a belőle kifejlesztett mikromódszer pedig képes 1–10 μg közötti fehérjét mérni. Ez utóbbi mikromódszer rendkívül érzékeny, de érzékeny az egyéb zavaró hatásokkal szemben is. A meghatározás során az alábbi reagensteket használjuk:

Színreagens: 100 mg coomassie kék G 250-t oldunk 50 cm^3 95%-os etil-alkoholban, az oldatot 100 cm^3 85%-os foszforsavhoz keverjük, majd az egészet desztillált vízzel 1 dm^3 -re töltjük. A reagenst szűrőpapíron keresztül átszűrjük, és barna üvegben, szobahőmérsékleten tároljuk. Az így kapott oldat néhány héten keresztül stabil, bár némi kicsapódás végbemehet a tárolás során. A csapadékot használat előtt szűréssel el kell távolítani.

A fehérjestandard előállítása során szarvasmarha- γ -globulint használunk, 1 mg/cm^3 koncentrációban, desztillált vízben oldva. A mikromódszer esetében a fehérjestandardot 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ -es oldatból állítjuk elő. Ezeket a desztillált vízben oldott fehérjét -20 °C-on tárolhatjuk a felhasználásig. A meghatározás során rendkívüli módon kell ügyelni a tisztaságra és arra, hogy az eszközök detergenst még nyomokban se tartalmazzanak. Kvarcküvetéket nem lehet alkalmazni, mivel a festék kötődik hozzájuk, az üvegeszközökhöz kötődött festéket pedig metanolos oldással vagy detergenssek segítségével el kell távolítani.

A standard módszer szerint 10–100 μg közötti fehérjének megfelelő szarvasmarha- γ -globulin-oldatot pipetázunk 100 μl térfogatú kémcsövekbe. Amennyiben az ismeretlen minta fehérjekoncentrációjáról nincsenek információink, a hígításokat 10-szeres, 100-szoros, illetve 1000-szeres mennyiségben végezzük el a törzsoldatból. A kalibrációs görbe készítése során párhuzamosan 10, 20, 40, 60, 80 és 100 μl -t pipetázunk az 1 mg/cm^3 szarvasmarha- γ -globulin standardoldatokból a kémcsövekbe, mindegyiket 100 μl -re egészítjük ki desztillált vízzel, és 100 μl desztillált vizet használunk a vakminta előállításához is. Mindegyik kémcsőhöz 5 cm^3 fehérjereagenst adunk, kerülve a felhabzást óvatosan összekeverjük, mert az rontja a reprodukálhatóságot. **A reakció nagyon gyorsan lejátsszódik,** ezért a standard, a vak és a minta fényelnyelését a reagens hozzáadását követően **két perc múlva már mérhetjük,** de a mérést egy órán belül

mindenképpen el kell végezni. A standard görbe nem lineáris, a fényelnyelés függ az alkalmazott reagens fényelnyelésétől. Ebből következik, hogy minden egyes meghatározás alkalmával standardsorozatot és vakmintát is kell készíteni.

A standard módszer alkalmas 10–100 μg közötti fehérjemennyiségek mérésére. Az ebből kifejlesztett **mikromódszer** ennél **lényegesen érzékenyebb**, és különösen akkor hasznos, ha igen kis mennyiségű fehérje áll rendelkezésre a meghatározáshoz. A mikromódszer alkalmazása során 1–10 μg közötti fehérjemennyiségeket – maximum 100 μl össztérfogatban – mérünk be 1,5 cm^3 térfogatú polietilén mikrocentrifugacsövekbe. Amennyiben az analizálandó minta közelítő fehérjetartalmát sem ismerjük, 10-szeres, 100-szoros és 1000-szeres hígítással is elvégezzük a mérést. A kalibrációs görbe készítése során a 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ szarvasmarha- γ -globulin standardoldatból mikrocentrifugacsövekbe bemérünk 10, 20, 40, 60, 80 és 100 μl oldatot, és desztillált vízzel mindegyiket 100 μl -re egészítjük ki. A vakmintához szintén 100 μl desztillált vizet mérünk be egy mikrocentrifugacsőbe. Mindegyik mintához hozzáadunk 1 cm^3 fehérjereagenst, és a csöveket óvatosan, de alaposan összekeverjük. A proteinreagens hozzáadását követően 2 és 60 perc között mérjük az oldat fényelnyelését 595 nm-en.

A Bradford-meghatározást nem nagyon zavarják a biokémiai analitikában használt reagensok, ennek ellenére néhány vegyszer jelentős hatással lehet a vakpróba fényelnyelésére, illetve a fehérje és a festék kötődésére. **A legnagyobb problémát a detergensok és a különféle amfolitok okozzák**, amelyeket gélfiltrálással vagy dialízissel el kell távolítani az oldatból, vagy a fehérjét ki kell csapni, és a csapadékból kell végezni a meghatározást. Megoldás lehet az is, hogyha a vakpróba és a kalibrációs standardok is ugyanazokat a zavaró anyagokat tartalmaznak, mint a minta. Bázikus közegben a festék anion formája dominál, ezért ilyenkor az abszorpció jelentős mértékben megnő.

A fehérjéhez kötött festék abszorpciós maximuma a kék színű ionos formához viszonyítva 590 nm-ről 620 nm-re tolódik el. Célszerű lenne tehát itt mérni a fényelnyelést, ezt azonban már zavarja a zöld színű forma 650 nm-en bekövetkező abszorpciós maximuma. Ezért az érzékenység növelését és a zavaró hatást is figyelembe véve 595 nm a legjobb kompromisszum.

A festék nem kötődik sem a szabad argininhez, sem a lizinhez, sem a 3000 Da-nál kisebb molekulatömegű peptidekhez, ezért a peptidhormonokat és a biológiailag aktív, fontos **peptideket ezzel a módszerrel nem lehet mérni. A Bradford-módszer érzékenysége a különféle fehérjék mérésekor igen eltérő.** Példaként említendő, hogy amennyiben a *tripszin* relatív abszorbanciája 18, akkor a bovin szérumalbuminé 100, a *citokrom c-é* 128, a hisztoné 130, a mielin bázikus fehérjéé pedig 139. A módszert sokféleképpen módosították azért, hogy ez a rendkívül eltérő változatosság mérséklődjék. Változtatták a festékkoldat koncentrációját, a pH-t, de lényeges eredményeket nem értek el e tekintetben. A membránfehérjék mérésekor célszerűnek látszik a detergensok teljes elhagyása és a fehérjék kalcium-foszfáttal való kicsapása. Befolyásolja a módszer érzékenységét a coomassie

kék G 250 festék tisztasága, ezért azt csak nagyon jó minőségben, megbízható helyről szabad beszerezni. Jelentős hatással lehet a meghatározás pontosságára a standard kalibrációs görbéhez használt fehérje minősége. Ehhez legtöbbször a szarvasmarha-szérumalbumint használják, mert ez viszonylag olcsó, és tiszta formában könnyen hozzá lehet jutni. A probléma ezzel az, hogy a fehérjének – Bradford-módszerrel vizsgálva – meglehetősen nagy a festékkötő kapacitása, ezért a legtöbb esetben az ismeretlen minta fehérjetartalmát (kalibrációs görbével végezve az értékelést) alulértékeli. A festékkötő kapacitásban mutatkozó különbségek miatt **a meghatározni kívánt fehérje festékkötő kapacitásának hasonló-nak kellene lenni ahhoz, mint amiből a standard kalibrációs görbét készítik.**

3.3.1.9.4. Egyéb módszerek a fehérjetartalom meghatározására

Fehérjeoldatok fehérjetartalmának mérésére az előzőekben ismertetett módszereken kívül alkalmasak lehetnek még a **turbidimetriás**, a **fluorometriás**, a **refraktometriás** és a **polarimetriás** eljárások is. Ezek a módszerek nem nagyon terjedtek el a gyakorlatban, azonban speciális problémák megoldására alkalmasak lehetnek. A turbidimetriás eljárások azon alapulnak, hogy az igen apró, lebegő részecskéket tartalmazó szuszpenziók, mint amilyenek a nagy hígításban kicsapott fehérjék, a rajtuk áthaladó fény egy részét szétszórják, az oldatot zavarossá teszik. A zavarosság mérése a **nefelometria**. A zavarosság kétféle módon mérhető: a turbidimetriás eljárás során mérhetjük a zavaros oldaton áthaladó fény intenzitását, illetve intenzitásának csökkenését a tiszta oldattal szemben, az abszorpciós fotometria szabálya szerint. A zavarosság mérésének másik módja az, amikor a lebegő részek által szétszórta fényt meghatározott szögben mérjük, amely mérési elv hasonló a fluorimetriához. A zavarosság bizonyos határok között arányos a lebegő részecskék számával, illetve adott diszperzitásfok esetén a lebegő anyag koncentrációjával. A koncentráció a turbidimetriás mérés során csak empirikus kalibrációs görbe segítségével mérhető, amennyiben az összes kísérleti körülmény azonos.

Turbidimetriás fehérjemeghatározással jól követhető a fehérjék enzimese lebomlása. Hasonlóan lehet a zavarosságból következtetni a fehérjekicsapás koncentrációfüggésére is. Zein-oldat koncentrációját úgy határozták meg, hogy 70%-os alkoholos fehérjeoldat 2 cm³-éhez 6 cm³ 1%-os NaCl-oldatot adtak, és 590 nm-en 60 perc után fotometriásan mérték a zavarosságot. Amennyiben a fehérjéből valamilyen kicsapószerrel zavaros oldatot sikerül létrehozni, akkor elválasztásuk során a turbidimetria akár az egyes fehérjefrakciók detektálására is alkalmas lehet.

A fluorometriás eljárások alkalmazásánál a fehérjemeghatározásra két lehetőség adódik: a fehérjék kapcsolása fluoreszkáló vegyületekhez, illetve a fluoreszkáló vegyületek fluoreszcenciájának kioltása fehérje adagolásával. Az első módszer technikájának lényege, hogy a festékkötéses módszerekhez hasonlóan

fluoreszkáló festéket kapcsolnak a fehérjéhez, és mérik az így kapott komplex fluoreszcenciáját 510 nm-en való gerjesztés után 540 nm-en. A többféle fluoreszcenciás festék közül az **eozin** bizonyult a leghasználhatóbbnak. Az eozinon kívül **fluoreszkarmint** is használtak fehérjék, peptidek, aminosavak és primer aminok meghatározására, a fluoreszkarmin ugyanis szobahőmérsékleten és vi-zes oldatban is reagál az aminocsoporttal. A gerjesztést 390 nm-en végezték, a kisugárzott fluoreszkáló fény intenzitását pedig 475 nm-en mérték. A reakció pH=4–10 közötti tartományban játszódik le, és segítségével 0,5 μg fehérje meghatározható. Ugyancsak érzékeny módszert dolgoztak ki a hisztinok meghatározására, amelynek segítségével 0,2–0,4 μg , lizinben vagy argininben gazdag hisztint lehet meghatározni.

A refraktometriás és a polarográfiás eljárások gyakorlati jelentősége elenyésző. Talán említésre méltó az a tény, hogy egyes aminosavak, polipeptidek és fehérjék meghatározott pH-n kobalttartalmú pufferben oldva katalitikus reakcióba lépnek a csepөгő Hg-elektóddal, így polarográfiásan mérhetők. A reakciót a fehérjék –SH csoportja adja. A módszerrel μg nagyságrendben lehet fehérjét meghatározni.

3.3.1.10. Élelmiszer-fehérjék vizsgálata elektroforézissel és izoelektromos fókuszálással

3.3.1.10.1. Az elektroforézis és analitikai alkalmazása

Az elektroforézis olyan elválasztási folyamat, amelyben **a szeparálandó komponensek elektromos térben különböző sebességgel vándorolnak.** A részecske vándorlási sebességét az elektrolitoldatban főképpen annak töltése és az elektromos térerő szabja meg. Az elválasztandó molekulának magának is lehet töltése, vagy a töltést eredményezheti a molekula felületére adszorbeálódott ion. A töltéssel rendelkező részecskéknél a közegben való mozgását gátolja a súrlódási ellenállás, amely a részecske átmérőjével és az oldat viszkozitásával arányos. A mozgást gátolhatja még az elektrolitoldat, melynek az elválasztandó anyag molekuláival ellentétes előjelű ionjai burokszerűen körülveszik a részecskéket. Ez az ionfelhő hidrátburkot vonz magához, mely gátolja a részecskék mozgását. A fékezőerő annál nagyobb, minél nagyobb a puffer ionerőssége, ezért a vizsgálandó molekula vándorlási sebessége elektromos térben az ionerősség növekedésével csökken.

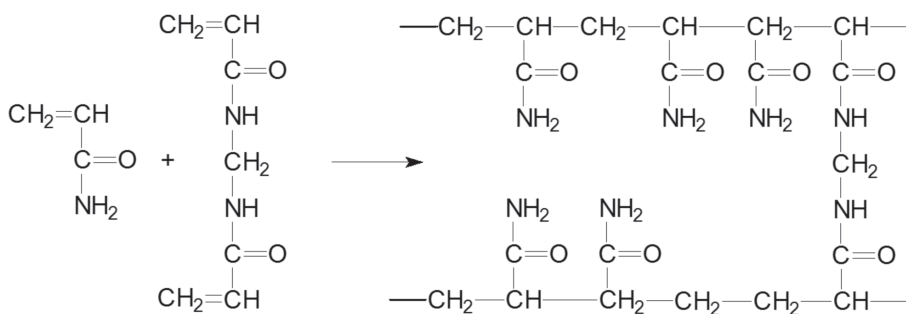
Az elektroforézis valójában anyagkeverékek analitikai vagy preparatív elválasztására szolgáló eljárás, mely **az egyes komponensek elektroforetikus mozgékonyágának különbségén alapszik.** A mintaadagolás módja szerint lehet szakaszos vagy folyamatos üzemű, az elválasztáshoz alkalmazott közeg minősége szerint pedig megkülönböztethetünk szabad és szilárd hordozón végzett elektroforézist (a hordozó lehet papír, keményítő, agar, cellulóz-acetát, porózus üveg

vagy poliakrilamid-gél). A használt feszültség nagysága alapján ismerünk kis-, közép- és nagyfeszültségű elválasztásokat.

Az analitikai eljárások közül a múlt század nyolcvanas éveiiig legelterjedtebb volt a papírelektroforézis, manapság azonban a poliakrilamid-gél elektroforézis (PAGE) szinte teljesen háttérbe szorította a többi módszert. A PAGE alkalmazásának legszembetűnőbb oka nagy felbontóképessége, hisz míg a papírelektroforézissel a szérumfehérjéket csak 5–7 frakcióra, addig a PAGE-sel akár 50–60 frakcióra is szét lehet választani. Fentiek miatt a papír-, a cellulóz-acetát-membrán-, a keményítő- és az agargél elektroforézises technikákkal nem foglalkozunk, röviden ismertetjük viszont a PAGE alapjait.

3.3.1.10.2. A poliakrilamidgél-elektroforézis (PAGE)

A poliakrilamid, az akrilamid és az N,N' -metilén-bisz-akrilamid (BIS) térhálós szerkezetű polimerizációs terméke; a térhálósító BIS a poliakrilamid-láncokba beépülve szabad funkciós csoportjaival a szomszédos láncokkal is reagálni képes a 39. ábra szerint.



39. ábra. Az akrilamid és a BIS reakciója

A hálószerkezet kialakulásával polimer gélgomolyagok keletkeznek, melyekben a poliakrilamid-láncok a maximális entrópiának megfelelően szabálytalan alakot vesznek fel. Az akrilamid- és a BIS-koncentráció, valamint a polimerizáció foka megszabja az átlagos pórusnagyságot, a pórusnagyság pedig megszabja az azokon még átszűrődő molekulák maximális tömegét.

A poliakrilamid-gél előnye a kémiai stabilitás és indifferencia, a nagyfokú transzparencia, a tág határokon belül megválasztható pórusnagyság, az adszorpció és az elektrooszmózis hiánya és a legtöbb oldószerben való oldhatatlanság. A fentiek miatt **a PAGE szinte valamennyi fehérje elválasztására és analízisére alkalmas**; jól szeparálhatók vele mind a neutrális, mind a bázikus, mind a savanyú karakterű fehérjék, mert a poliakrilamid-gél teljes mértékben inert, nem változtatja meg az elválasztandó fehérjemolekulák natív tulajdonságait. Ha a gél

és a puffer összetételét jól választjuk meg, bármilyen molekulatömegű, illetve tulajdonságú fehérjét a legjobb felbontóképességgel tudunk elválasztani.

A poliakrilamidgél-elektroforézis folyamata a következők szerint összegezhető. A szétválasztani kívánt fehérjekeverék a mintagélbe kerül, amely nagypórusú, kis akrilamid-koncentrációjú gél. Az alatta levő réteg a gyűjtő- vagy elosztógél szintén nagypórusú, benne koncentrálódik az elektroforézis első fázisában az elválasztandó anyag. Az elválasztógél kisebb pórusú, melyben a fehérjemolekula-keverék frakcióira szeparálódik. A gélekben különböző pufferoldatok vannak, melyek a vezető-, illetve követőionokat tartalmazzák. A különböző összetételű gél- és elektródpufferek következtében a fehérjemolekulákkal együtt kétféle ion vándorol az elektromos erőter hatására; a gélben lévő puffer vezető ionjai, az ún. vezetőionok, és az elektródpufferből származó ún. követőionok. Az elválasztás kezdetén a minta- és a gyűjtőgélben csak vezetőionok találhatók, a követőionok pedig kizárólag az elektródpufferben vannak. Az áram bekapcsolásakor a vezetőionok nagyobb mozgékonyaságuk következtében a gyűjtőgélben a fehérjék és a követőionok előtt mozognak, egy kisebb vezetőképességű zónát hagyva maguk mögött. Mivel a vezetőképesség és az elektromos térerő fordítottan arányos, a kisebb vezetőképességű zóna nagyobb térerőt kap, ami a fehérjéket és a követő ionokat felgyorsítja, melyek a vezetőionok mögött azonos sebességgel vándorolnak. Amint a vándorló fehérjezóna a gyűjtő- és az elválasztógél határaira ér, megváltozik a pH és a pórusnagyság. Az elválasztógél pH-jának hatására a követőionok disszociációja és így mozgékonyasága többszörösére növekszik, ezáltal sebességük majdnem eléri a vezetőionokét, meghaladja minden fehérjemolekula mozgékonyaságát, melynek következtében a követőionok a fehérjék előtt, a vezetőionok mögött fognak haladni.

A PAGE alapvető vegyületei az akrilamid és a bisz-akrilamid, a katalizátorok, amelyek a térhálós szerkezet kialakításáért felelősek, a különféle detergenssek, melyek a PAGE alkalmazási lehetőségeit tovább bővítik és tökéletesítik, és a pufferoldatok, amik az elválasztásnál az optimális pH-t és a különböző ionokat szolgáltatják. A különböző gélkészítési technikák ismertetése nem tartozik szorosan a tárgyhoz, ezért ettől eltekintünk. Azt csak megemlítjük, hogy a korábban alkalmazott pálcikaalakú géleket a laptechnika szinte teljes egészében kiszorította, mert ez utóbbi sok minta párhuzamos futtatására alkalmas, az elektroforézis folyamán keletkezett hő elvezetése biztosabb, kétdimenziós elválasztásra is lehetőséget ad, a denzitometriás kiértékelés pontosabb, a dokumentálás könnyebb, és könnyen alkalmazható az autoradiográfiás módszer is.

3.3.1.10.2.1. A fehérjeminták előkészítése, gélre vitele és az elektroforézis folyamata

A mintafelvitel előtt meg **kell határozni a vizsgálandó anyag fehérjetartalmát**, hisz attól függően, hogy a minta hány komponenst tartalmaz, egy mintahelyre 10–100 μg fehérjét kell feljuttatni annak ellenére, hogy egyetlen fehérje 0,1 μg

mennyiségben is jól detektálható. 30–50 vagy több komponenst tartalmazó minta esetén 200–400 μg fehérjét kell a géltre felvinni. Biológiai folyadékokat a fehérjekoncentrációtól függő mennyiségben akár közvetlenül is a géltre lehet vinni, élelmiszerfehérjék esetében azonban az analízist meg kell előznie egy jelentős mértékű tisztításnak. Az előkészítés során 10–100 μg fehérjét tartalmazó oldathoz 0,1 cm^3 puffert adunk, amelyben előzőleg 0,1%-os metanol–ecetsav (9:1)-ban oldott bróm-fenolkéket teszünk, ami jelzőfestékként a frontvonal haladását mutatja az elektroforézis folyamán. Ebből a keverékből lehetőleg 10–20 μl anyagot rétegzünk egy-egy mintahelyre. Nagy ionerősségű oldatok esetében az elektroforézist megelőzően feltétlenül dializálni kell a hígított gyűjtőgéllal vagy a hígított elektódpufferrel szemben.

A minta felvitele után indíthatjuk az elválasztást. Alkalikus pufferrendszerekben a fehérje, negatív töltésének következtében, az anód felé vándorol. Az egyenáramú áramforrást úgy kell megválasztani, hogy a feszültség és az áramerősség állandó kontroll alatt maradjon. A mintát kisebb áramerősség mellett koncentráljuk (1 mA/gél), majd 2–5 mA/gélre növelve végezzük a fehérjemolekulák szétválasztását. Minden eltérő gélméret és puffer esetében más az optimális feszültség és áramerősség, azt azonban figyelembe kell venni, hogy ha a feszültség és az áramerősség az optimálisnál kisebb, akkor az elválasztott zónák életlenek lesznek, ha viszont nagyobb, akkor a keletkezett hő rontja a szeparációt. A futtatást addig folytatjuk, amíg a jelzőfesték a gél szélétől 0,5–1 cm távolságra nem ér, amikor az áramforrást kikapcsoljuk és a géleket kiszedjük. A géllapok eltávolítása a készülék konstrukciójától függ. Egyes esetekben vékony tűvel és vízszaggárral lehet eltávolítani, majd az elvárt géllapot ajánlatos azonnal fixálóoldatot tartalmazó edénybe helyezni. A fixálás megakadályozza a fehérje kidiffundálását a gélből, és a festőoldatot is kíméli. Fixálás után a fehérjézónákat festéssel tesszük láthatóvá, majd sor kerülhet a fehérjefrakciók minőségi és mennyiségi kiértékelésére. Festésre leggyakrabban az amidofeketét vagy a Coomassie-kéket használjuk, melyek gélen megkötődő feleslegét mosással kell eltávolítani.

A proteinogram kiértékelése festés nélkül is megvalósítható az UV fényabszorpció segítségével, de alkalmas erre a fluorimetriás értékelés is fluoreszcens festést követően. A gyakorlatban jobban elterjedt azonban a festett proteinogramok értékelése, amelynek során a festékek a fehérjemolekulák szerkezeti sajátosságai miatt különböző módon kötődnek. A megfestett frakciók kvantitatíve ezért csak ugyanazzal a fehérjével felvett kalibrációs görbe alapján értékelhetők. A mennyiségi értékelés követelménye a jó elválasztás, a denzitométer és az integrátor, illetve a számítógépszoftver. Ilyen esetben is rendkívüli óvatossággal kell eljárni, hisz a mennyiségi értékelést befolyásolhatja a csúcsok nem megfelelő elválása, és az, ha a detektor érzékenysége nem lineáris az abszorpcióval.

Az elkészült proteinogramot 7%-os ecetsavban hosszú ideig lehet tárolni a festés intenzitásának csökkenése nélkül. Géllapokat dehidratálással is lehet tartósítani.

3.3.1.10.2.2. Speciális alkalmazások az élelmiszerfehérje-kutatásban

Az élelmiszer-fehérjék analízisére a PAGE sikeresen alkalmazható, azonban figyelemmel kell lenni arra, hogy az elválasztással kapott frakciók száma nem mindig adja meg a mintában lévő különböző fehérjekomponensek valóságos számát. Ugyanaz a fehérje vagy enzim több csík formájában is megjelenhet a proteínogramon, mert az esetek egy részében különbség lehet az izomermolekulák méretében, melyet a töltésbeli különbség vagy a kisebb ligandumkötés okozhat, és a frakciók konformációja is különböző lehet. Előfordulhat azonban az is, hogy a frakciók heterogenitását az eljárás során elkövetett hiba okozza a puffer és a fehérjemolekulák közötti, valamint az egyes fehérjefrakciók közötti kölcsönhatások következtében. Így az adott fehérjemolekula részleges disszociációja következhet be, a fehérje aggregációja állhat elő, a konformációs izomerek közötti kapcsolódás jöhet létre, és a fehérjemolekulák közötti komplexképződés sem zárható ki az elválasztás folyamán.

A PAGE alkalmazható élelmiszer-fehérjék molekulatömegének meghatározására is. A fehérjék Na-dodecil-szulfáttal (SDS) való kezelése a molekulákat azonos töltésű random láncokká alakítja, mely az SDS gél-elektroforézis molekulatömeg meghatározására történő alkalmazásának az alapja. A különféle módszerek a fehérjéket SDS-sel inkubálják, merkapto-etanollal kezelik, majd detergenst tartalmazó gél- és pufferrendszert használnak, melynek során **az SDS-fehérjekomplex elektroforetikus vándorlása a molekulatömeggel lesz arányos.** A vizsgálandó fehérje mozgékonyágát ismert molekulatömegű fehérje mozgékonyágával összehasonlítva a molekulatömeg meghatározható. Kalibrációs görbe készítése céljából meghatározzuk különböző ismert molekulatömegű fehérjék mobilitását, majd rendszerint **a molekulatömeg logaritmusát a mobilitás függvényében ábrázolva olyan hitelesítő görbét kapunk**, aminek segítségével a vizsgált fehérje molekulatömege a relatív mobilitás alapján meghatározható.

A PAGE jól használható **enzimek specifikus kimutatására, elválasztására és mennyiségi meghatározására is.** Ezen túl a PAGE alkalmazható az élelmiszerfehérje-kutatásban különféle fehérjék szétválasztására. A többkötetnyi alkalmazás közül kiemelkedő, hogy a PAGE-t alkalmazták a bab oldható fehérjéinek izolálására, közeli rokonságban lévő növények rokonsági fokának meghatározására, állati eredetű fehérjék (tej, tojás, hús) fehérjefrakcióinak elemzésére és az izomszövet oldható fehérjéinek jellemzésére. Az utóbbi időben olyan bonyolultnak tűnő feladatokat is sikerült a PAGE-val megvalósítani, mint a különböző fajú állatok tejének megkülönböztetése és a keverési arány meghatározása. Ennek során Vörös és mtsai. egyrészt a kancatej fehérjefrakcióit tanulmányozták, másrészt módszert dolgoztak ki a kancatejhez hozzákevert tehéntej mennyiségének meghatározására. Az α_s - és β -kazein vizsgálatához 8%-os natív PAGE-gélt használtak 4 M karbamidtartalommal, a savófehérjék esetében 14%-os PAGE-gélt alkalmaztak karbamid nélkül. A gél mérete mindkét esetben 80x100x1 mm volt, az analízis során 15-ös fésűt alkalmaztak, és 10 mg/cm³-es hígítás után a felvitt

mintamennyiség 4 μ l/slot volt. A futtatáshoz TRIS-glicin-puffert használtak, a fixálást 12,5%-os triklór-ecetsavval, a festést 0,15%-os Serra-blue-G-vel végezték. A savófehérjék vizsgálatakor a 14%-os karbamidmentes natív PAGE-rendszerben nyolc egymástól jól elkülöníthető fehérjefrakciót találtak. Az α_s -kazeinek és a β -kazeinek vizsgálata során 8%-os, 4 M karbamidtartalmú PAGE-gélrendszerben 16 fehérjekomponenst sikerült elkülöníteni. A 18 vizsgált kancatejminták közötti különbségek egyértelműen a genetikai polimorfizmus meglétét bizonyítják.

3.3.1.10.3. Különféle fehérjék szétválasztása és meghatározása izoelektromos fókuszálással

Az elektroforézis konstans pH-jú gélek és pufferek segítségével történik, ezzel szemben az izoelektromos fókuszáláshoz (IEF) olyan **pH-gradienst hozunk létre, amely a katódtól az anódig folyamatosan változik**, így tulajdonképpen pH-gradiens segítségével végezzük az elektroforézist. A pH-gradiensben az egyes fehérjék töltésüknek megfelelően vagy a katód, vagy az anód irányába vándorolnak, ott azonban, ahol a pH az egyes molekulák izoelektromos pontjának megfelelő, megállnak, hisz ott töltéssel nem rendelkező, semleges molekulaként viselkednek. Összefoglalva tehát: **a fehérjék abban a pontban fókuszálódnak, ahol a közeg pH-ja a fehérje pI-jével azonos**. A módszer kidolgozását az tette lehetővé, hogy előállították a vivő Ampholine-preparátumot, ami különböző poliamino- és polikarboxisavak keveréke, amellyel sikerült megvalósítani a folyamatosan változó pH-t, mely pH-gradiens a meghatározás során stabilis. Az alifás poliamino- és polikarboxisavak jól oldódnak vízben, pH-értékük különböző, az egyes komponensek pH-ja 3 és 10 között változik, de megfelelő módszerrel a pH-intervallum választható például 4 és 6, 5 és 8, 7 és 9 vagy 8 és 10 között. A vivő-amfoliteknek 280 nm-en van abszorpciója, ami kis fehérjekoncentráció esetében nagyobb hibát okozhat. Ha a fehérjetartalmat színreakcióval akarjuk meghatározni, akkor mindenképpen dialízist kell alkalmazni legalább 500-szoros térfogattal szemben, 72 órán át, az oldószert 10–12 óránként cserélve.

Az izoelektromos fókuszálást szacharóz gradienssel is kombinálhatjuk, melynek segítségével elsősorban **a fehérje izoelektromos pontját tudjuk megállapítani**. Napjainkban legnagyobb jelentősége a poliakrilamid-gélben végzett izoelektromos fókuszálásnak van, aminek segítségével többek között a tejfehérje genetikai variánsokat is szét lehet választani. Az izoelektromos fókuszálás alkalmas lehet arra is, hogy különféle fajok egymáshoz kevert, hasonló karakterű fehérjeit szét lehessen választani és mennyiségüket meg lehessen határozni. Vörös és mtsai. arra vállalkoztak, hogy a drága kancatejhez hamisítási célból hozzákevert tehéntejet egyrészt kimutassák, másrészt annak mennyiségére közelítő információt kapjanak. A fehérjefrakciók elválasztását CA-IEF (+10 mg glicin)-rendszerben, 124x258x0,2 mm gélen végezték, 0,5 M H_3PO_4 anódpuffer és 0,5 M NaOH katódpuffer alkalmazásával. A minta hígítása 10 mg/cm³, a mintafelvitel

módja szűrőpapír, a felvitt mennyiség pedig $11 \mu\text{l/slot}$ volt. A fixálást 12,5%-os triklór-ecetsavval, a festést pedig 0,15%-os Serra-blue-G-vel végezték.

Az izoelektromos fókuszálással a kanca- és a tehéntejből készült elektroforetogramokat összehasonlítva feltűnő a két állatfaj tejfehérje-szerkezetének különbsége, amely legmarkánsabban a tehéntej α_1 -kazein komponenseinek helyzetével és azok intenzív tónusával jellemezhető. A kancatej ugyanezen a helyen nem tartalmaz fehérjekomponenseket, ezért ha a hasonló körülmények között végzett IEF során a kancatejmintában ebbe a tartományba eső fehérjék fordulnak elő, akkor biztosan állítható, hogy a kancatejet más, vélhetően tehéntejjel elegyítették. Ha az elektroforetogramról denzitogramot is készítünk, akkor a kontroll tejminták felhasználásával az elegyítés mennyiségi arányára is kaphatunk információt.

3.3.1.11. A fehérjék oszlopkromatográfiája

A kromatográfia szorpción és deszorpción alapuló elválasztástechnikai módszer, melynek során az elválasztandó anyagok egy keskeny kezdeti zónáról különféle szorbenseken, folyadék- vagy gázáramlás hatására, eltérő sebességgel mozdulnak el. A fehérjeanalitikában és a preparatív elválasztástechnikában az oszlopkromatográfia kiemelkedő jelentőségű, amelynek segítségével hasonló szerkezetű frakciók választhatók el egymástól, preparatív oszlopkromatográfiával pedig **egy-egy anyag igen nagy tisztaságban izolálható**. Fehérjék szétválasztására és meghatározására mind a folyadék-szilárd, mind a folyadék-folyadék kromatográfia elterjedt, melyek az elválasztást előidéző hatások alapján adszorpciós, megoszlásos és ioncserés elválasztásokra oszthatók. Mindhárom esetben követelmény, hogy az állófázis oldhatatlan legyen a mozgófázisban, az állófázis irreverzibilisen ne kösse meg az elválasztandó anyagokat, ne bontsa el azokat és ne lépjen reakcióba a mozgófázis komponenseivel. Az eljárás során az oszlopon az elválasztandó anyagok különböző erővel kötődnek, majd a mozgófázis áramoltatásával a kötődésük erősségétől függően deszorbeálódnak, az oszlop további részében pedig ismét adszorbeálódnak az állófázisra. Ez a folyamat folytatódik az oszlop teljes hosszában, melynek során jelentős eltolódások jönnek létre a szétválasztani kívánt komponensek között, aminek következtében az elválasztandó komponensek különböző időpontban elkülönülve jelennek meg az oszlop végén. Az eluált anyagot a fehérjeanalitikában általában UV-abszorpcióval határozzák meg; az **UV-abszorpció időbeni változását ábrázolva kapjuk a kromatogramot**, melynek segítségével az egyes komponensek azonosíthatók és mennyiségileg meghatározhatók.

3.3.1.11.1. A fehérjék vizsgálata adszorpciós oszlopkromatográfiával

Az adszorpciós kromatográfiában alkalmazott szorbensek közül csak kevés alkalmazható fehérjék elválasztására, mert ezen szorbensek **hidrofil aktív centrumain**

a kötődés adszorpcióval megy végbe, kapacitásuk nagy molekulájú anyagokkal szemben viszonylag kicsi, így a fehérjék csak kis hatásokkal választhatók el ezzel a módszerrel. Az ilyen típusú kromatográfiás körülmények között a fehérjék denaturálódhatnak és biológiai aktivitásukat is elveszíthetik, ennek ellenére számos alkalmazást írtak le fehérjék szétválasztására ezzel a módszerrel. Hidroxiapatiton például elemezték az albumin- és a γ -globulin-frakciókat, a tojássárgája lipoprotein- és kromoprotein-frakcióit, meghatározták a lizozim és az ovalbumin mennyiségét, és szétválasztották a szérumprotein-frakciókat.

Ritkán ugyan alkalmazták adszorbensnek a fehérjeanalitikában az alumínium-oxidot, a cellulózt, a kaolint és a szilikagélt, azonban ezek jelentősége a gyakorlatban minimális.

3.3.1.11.2. A fehérjék vizsgálata megoszlásos oszlopkromatográfiával

A megoszlásos oszlopkromatográfia során **az elválasztás alapja az elválasztandó anyag ismételt ellenáramú megoszlása egy álló- és egy mozgófázis között**. Az állófázis egy szemcsés hordozóra felvitt nagy viszkozitású folyadék, a mozgófázis pedig vizes oldatok és szerves oldószerek különböző összetételű elegye. A fázisok közötti egyensúlyi koncentráció-megoszlás elsősorban a mozgófázis polaritásától függ, ezért a megoszlási hányados a mozgófázis összetételének változtatásával módosítható. A megoszlásos oszlopkromatográfia az adszorpciós oszlopkromatográfiához hasonlóan a fehérjekutatásban nem tudott igazán nagy jelentőségre szert tenni, melyet azokkal a bonyolult viszonyokkal lehet magyarázni, melyek az álló- és mozgófázis, valamint a fehérjék kölcsönhatása következtében kialakulnak.

3.3.1.11.3. A fehérjék vizsgálata ioncserés oszlopkromatográfiával

Az ioncserélő oszlopkromatográfia álló fázisa egy olyan ioncserélő anyag, amelynek mátrixához elektrolitos disszociációra képes csoportok kötődnek kovalens kötéssel. Azokat az ioncserélőket, amelyek mátrixán **a fix ion negatív töltésű savmaradék, kationcserélőknek, a pozitív töltésű fix iont** tartalmazókat pedig **anioncserélőknek** nevezzük. A fix ionok ellenionjai ugyanolyan töltésű más ionokkal kicserélhetők. Az ioncserés kromatografálás során a szorbens ellenionjait először az oszlopra adagolt minta ionjai váltják fel, majd ezeket, töltéseik nagyságával ellenkező sorrendben, az eluáló pufferoldat ionjai fokozatosan kicserélik. A kicserélés, illetve elválasztás függ a kromatografálás hőmérsékletétől, valamint a mozgófázis ionkoncentrációjától és a pH-tól. Az ioncserélő szorbenseken a fehérjék főként Coulomb-féle erőkkel kötődnek, az elektrosztatikus kölcsönhatásokon kívül azonban apoláros adszorpcióval és hidrogénhidakkal való kötődéssel is számolhatunk. A nagy molekulatömegű fehérjék esetében a töltést nemcsak az őket alkotó aminosavak aránya határozza meg, hanem jelentősen befolyásolja

azt az oldószer pH-ja is. Az izoelektromos pontnál kisebb pH-jú oldatban a fehérjemolekulák pozitív, nagyobb pH-jú oldatban pedig negatív töltésűek lesznek, ezért **a pozitív töltésű anyagok szorpciójához kationcserélő, a negatív töltésűekéhez pedig anioncserélő szorbenst kell alkalmazni.** Az izoelektromos pont felett és alatt egy-egy pH-tartományban a fehérjék mind kation-, mind anioncserélő gyanánt kromatografálhatók, az izoelektromos pontban viszont az ikeriont nem köti meg sem a kation-, sem az anioncserélő szorbens. Fehérjék oszlopkromatográfiás elválasztásához ioncserélő műgyantákat, cellulóz alapú ioncserélőket vagy ioncserélő géleket alkalmaznak.

3.3.1.11.3.1. Elválasztás ioncserélő műgyantákon

A fehérjék ioncserés oszlopkromatográfiás vizsgálatakor ügyelni kell arra, hogy a nagy molekulatömegű, erősen differenciált térszerkezetű anyagok a szorpció következtében könnyen denaturálódhatnak, mások pedig az ioncserélő gyanánta funkciós csoportjaira irreverzibilisen kötődhetnek. A feladat megoldásához szükséges optimális ioncserélő kiválasztását elősegíti, ha ismerjük az elválasztandó anyagok izoelektromos pontját, biológiailag aktív anyagok esetében pedig azt a pH-tartományt, amelyben stabilitásukat nem veszítik el. A fehérjeanalitikában leggyakrabban **divinil-benzollal különféle mértékben térhálósított szulfonált polisztirol, valamint polimetakrilsav műgyanták** kerülnek felhasználásra. A kationcserélő műgyantákon kromatografálható fehérjék általában kisebb molekulatömegűek és bázikus jellegűek. Szulfonált polisztirol műgyantán sikerült szétválasztani olyan fehérjéket, mint a *citokrom c*, a *ribonukleáz*, a *deoxiribonukleáz*, a *lizozim*, az *inzulin*, a *prolaktin*, a *pektináz*, a *celluláz*, a *papain*, a növekedési hormon, a *hisztionok*, a *hemoglobin*, a *tripszinogén*, a *kimotripszinogén* és a *kimotripszin*. Nagyszámú publikáció jelent meg a peptidok ioncserés oszlopkromatográfiás szétválasztásáról és meghatározásáról is. Vizsgálták egyes fehérjék enzimhasítás után kapott fragmenseinek mennyiségét is, és így ez az eljárás is hozzájárult a fehérjék elsődleges szerkezetének meghatározásához.

3.3.1.11.3.2. Elválasztás cellulózalapú ioncserélőkkel

Igen jó hatásfokkal használhatók fehérjék és peptidok elválasztására az erősen **hidrofil, cellulózalapú ioncserélők és gél ioncserélők.** Az ioncserélő cellulózszármazékok aktív csoportjai a cellulóz felületén helyezkednek el, de ezek mellett a cellulóz hidroxilcsoportjai is megkötik a bonyolult szerkezetű fehérjéket anélkül, hogy azok a szorpció következtében denaturálnának. A leggyakrabban használt cellulózszármazékok a karboxi-, a metil- és a foszforilált-cellulóz kationcserélők, a dietil-amino-etil-, az amino-etil- és az epiklór-hidrinezett, valamint trietil-aminozott cellulóz anioncserélők.

Az ioncserélő cellulózszármazékok igen hamar elterjedtek és nagy jelentőségre tettek szert a fehérjeanalitikában. Ezek az anyagok a cellulóz rostos szerkezete és a cellulózmolekula hidroxilcsoportjai miatt nagy mennyiségű vizet tud-

nak felvenni, ezért a duzzadt cellulóz tömege 7–10-szerese lehet a száraz cellulóz tömegének. A száraz ioncserélő cellulóz előkészítésének első lépése ezért a cellulóz hidratálása, majd az első eluáló pufferrel történő szuszpendálást követően a kromatografáló oszlopba való töltése. A szétválasztani kívánt fehérjeoldatot az oszlop felett lévő puffer alá rétegezzük, vagy pedig az oszlop feletti puffer leengedése után az oszlop felszínére engedhetjük a kromatografálandó oldatot. Ezt követően növekvő pH-jú és ionkoncentrációjú pufferekkel, gradienselúcióval választjuk szét a frakciókat. Miután a fehérjefrakciók elhagyták az ioncserélő oszlopot, az oszlop töltetét 1 M NaOH-dal regeneráljuk, a lúgot az oszlopról desztillált vízzel kimossuk, majd a következő elválasztás előtt az első puffer oldatával addig mossuk, amíg az oszlopról távozó pufferoldat pH-ja azonos nem lesz az eredeti pufferével.

Az ioncserélő cellulózok felhasználása fehérjék kromatografálására szinte áttekinthetetlenül bőséges. Az ioncserélő cellulóz és a pufferek összetételének változtatásával szinte valamennyi jelenleg ismert fehérje izolálása, a többi fehérjefrakciótól történő elválasztása és meghatározása megvalósítható.

3.3.1.11.3.3. Elválasztások ioncserélő gélekkel

A térhálósított dextránalapú és a poliakrilamid-alapú gélek mind ioncserélő, mind géliszűrő tulajdonsággal rendelkeznek, a kromatográfiás elválasztás során azonban mégis inkább az ioncsere kerül előtérbe. **Az ioncserélő gélek különösen előnyösen alkalmazhatók biológiailag aktív, labilis anyagok elválasztására, illetve tisztítására.** Alkalmazásuk során célszerű figyelembe venni mind az ioncserélőkre, mind a géliszűrőkre vonatkozó elveket és technikai megoldásokat.

3.3.1.11.4. A fehérjék vizsgálata egyéb kromatográfiás módszerekkel

A fehérjék szétválaszthatók és meghatározhatók **affinitás kromatográfiával**, melynek során az állófázis olyan szorbens, amelynek oldhatatlan mátrixához kovalens kötésre képes gyök segítségével egy biológiailag aktív vegyület van kötve. Ez a mátrixhoz kötött bioszorbens-molekula a mozgófázisból származó biológiailag aktív vegyülettel reakcióba tud lépni. A bioszorbens által létrehozott reakció lehet egy reverzibilis kötés, vagy lehet egy olyan kémiai folyamat, amelynek során a mozgófázisban lévő molekula kémiaiilag átalakul. A bioszorbensek kialakítására egyik leggyakrabban használt mátrix brómcíános kezeléssel állítható elő agaróz szuszpenzióból, majd az iminocsoporthoz hozzákapcsolják a biológiailag aktív komponenst, ami legtöbbször fehérje. Ily módon **enzimeket lehet a szilárd hordozóhoz kapcsolni**, és az immobilizált enzimeket fel lehet használni fehérjék szétválasztására és meghatározására.

Az affinitás kromatográfia mellett az elmúlt 30 évben rohamos lépésekkel fejlődött a **nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia**, ami ugyancsak **kiválóan alkalmas fehérjekomponensek szétválasztására** és meghatározására. A mozgó-

fázis áramoltatása a kromatografálás meggyorsítása érdekében rendkívül nagy nyomáson történik, amelynek során nő a hatékonyság, másrészt pedig felgyorsulnak az elválasztási folyamatok. A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia további előnye az automatizálhatóság, melynek következtében a szubjektív hiba gyakorlatilag csak a minta-előkészítésre korlátozódik.

3.3.1.12. A fehérjék gélkromatográfiája

3.3.1.12.1. A gélkromatográfia alapjai

A gélkromatográfia a molekulatömeg-különbségeken alapuló, egyik legelterjedtebb elválasztási módszer. A molekulaméret szerinti elválasztás jól illeszthető az előzőekben ismertetett kromatográfiás módszerekhez. A gélkromatográfiás elválasztás során a mozgófázis valamilyen folyadék, a töltet pedig finom eloszlású gél, megfelelő pórusmérettel, ezért **a gél belsejébe csak azok a molekulák tudnak behatolni, amelyek mérete a gél pórusméreténél kisebb.** Amely molekulák behatolnak a gél szemcsék belsejébe, azok tovább maradnak az oszlopon, nagyobb oldószertérfogattal eluálódnak, mint a gélbe behatolni képtelen, a gél pórusainál nagyobb molekulák. Mivel egy gél pórusai mindig inhomogének, a gélkromatográfia során a gél pórusainál **kisebb és nagyobb molekulatömegű** tartományba tartozó **fehérjemolekulák egymástól elválaszthatók.**

A kromatografálást háromdimenziós rácsot alkotó, térhálós szerkezetű géleken végzik. A térháló mechanikai stabilitást nyújt a gélnek, és a háromdimenziós térháló a gél pórusméretét is meghatározza. A gél mátrixának inertnek kell lennie, azon ioncsoportok nem, vagy csak kismértékben lehetnek jelen. A gélnek mechanikailag és kémiaiilag stabilnak kell lennie, a gél és az elválasztani kívánt anyagok között legfeljebb gyenge, reverzibilis, hidrofób kölcsönhatások alakulhatnak ki. A gél szemcsemérete lehetőleg homogén legyen, hogy az eltérő méret miatt a részecskék közötti csatornák inhomogenitása ne következzen be. A kromatográfiás műveletekhez használt gélek kereskedelmi forgalomban kaphatók, és szinte minden elválasztáshoz megtalálható az optimális géltypus.

A gélkromatográfia **legfőbb alkalmazási területei a gyors molekulatömegmérés, a preparatív csoportszeparálások a molekulatömeg alapján, az egyes csoportok preparatív frakcionálása, és a peptidek, valamint a fehérjék gélkromatográfiás tisztítása.** Aminosavak is szétválaszthatók gélkromatográfiával, azonban e módszer pontossága, illetve hatékonysága meg sem közelíti az ioncserés oszlopkromatográfiás vagy a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározását.

3.3.1.13. A fehérjék rétegekromatográfiája

3.3.1.13.1. A rétegekromatográfia alapjai

A kromatográfiás módszerek közül a rétegekromatográfia a planáris módszerek csoportjába tartozik. Valójában egy „planáris” oszlopról van szó, ezért az oszlop-módszerek és a planáris módszerek között elvi alapokat tekintve gyakorlatilag alig van különbség. Az oszlopkromatográfia felbontóképessége ugyan jelentősen nagyobb, mint a rétegekromatográfiáé, ennek ellenére a rétegekromatográfiának számos előnye van az oszlopkromatográfiával szemben.

- A rétegekromatográfiával elválasztott vegyületek vizuálisan értékelhetők, a szétválasztott vegyületek kimutatására szelektív és specifikus színreakciók alkalmazhatók, így pár vegyület specifikusan kimutatható a sok komponens mellett.

- Oszlopkromatográfiás elválasztáskor egyes komponensek értékelhetetlenül, irreverzibilisen az oszlophoz kötődnek; rétegekromatográfiás elválasztáskor viszont a minta összes komponenséről áttekintést kapunk.

- A rétegekromatográfiában a kromatográfiás feltételek megváltoztatása rövid időt vesz igénybe, és fő előnye még az is, hogy a legtöbb rétegekromatográfiás módszer egyszerű, olcsó berendezésekkel, rövid idő alatt ad értékes adatokat néha bonyolult anyagkeverékek esetében is.

A rétegekromatográfiás analízis során a hordozók megválasztásával lehetőség van megoszlási, adszorpciós és ioncserés rétegekromatográfiás vizsgálatokra is. A **papírkromatográfia** manapság már háttérbe szorult, ezzel szemben rendkívüli módon elterjedtek a 0,25–0,50 mm vastag **kent rétegek**, melyeket megfelelő aktiválás után lehet analitikai célokra felhasználni. A kent rétegek mellett nagyon sok cég gyárt **kész réteglapokat**, amelyek készítéséhez hordozólapnak üveglemezt és műanyag- vagy alumíniumfóliát használnak. A kész réteglapok könnyen tárolhatók, darabolhatók, egyszerűen dokumentálhatók, és egyenletes, homogén réteget adnak.

A vizsgálandó oldott anyagmintákat cseppenthetjük pontban vagy sávban, megfelelő mikropipettával vagy kapillárisal. A cseppentés során meleg levegővel a foltokat vagy sávokat beszárítjuk, így a felcseppentett anyag mennyiségét széles határok közt változtathatjuk. A felcseppentés után a réteglapokat csiszolt fedelű futtatókádba állítjuk, melynek az aljára töltjük a futtatószerkeletet. Az oldószerkelet megfelelő távolságra jutása után a réteglapot a kádból kiemeljük, és a megszáradt rétegen a szétválasztott anyagokat saját színük, UV-fluoreszcenciájuk vagy megfelelő reagenssel való bepermetezés után, esetleg melegítéssel kombinálva mutatjuk ki.

A rétegekromatográfiában végezhetünk kétdimenziós futtatást is, sőt az egyik dimenzióban rétegelektroforézist is alkalmazhatunk. A **kétdimenziós futtatással** a komponensek szétválását, beazonosítását és mennyiségi meghatározását javíthatjuk.

3.3.1.13.2. A rétegekromatográfia alkalmazása élelmiszer-fehérjék vizsgálatára

A fehérjéket gélrétegen, szerves és szervetlen alapú rétegeken, cellulózárrétegen, esetleg ioncserélő rétegeken is elválaszthatjuk. Az ioncserélő vékonyrétegen történő elválasztás inkább az aminosavak és a peptidek szétválasztására használható, míg a fehérjék elválasztására a gélréteg-kromatográfia a legalkalmasabb. A gélréteg készítésére általában a dextránalapú félszintetikus és az akrilamidalapú szintetikus géleket használjuk. A gélrétegeket általában üveglapokon 0,5 mm vastagságban rétegenként szerkezettel készítik. A kent rétegek 15–20 perces szabad levegőn történő állás után felhasználhatók kromatográfiás vizsgálatokhoz, illetve nedves kamrában hosszabb ideig tárolhatók, ha a mikroorganizmusoktól a réteget meg tudjuk védeni. A vizsgálandó fehérjemintából 1–5 μl -t viszünk a gélrétegre kapilláris vagy mikropipetta segítségével, és célszerű, ha a vizsgálati minta mellett ismert fehérjepreparátumot is futtatunk. A gélréteg-kromatográfiás futtatókamra egy olyan egyszerű berendezés, amely az üveglap 10–20 fokos dőlésével biztosítja az anyagok optimális vándorlási sebességét, a futtatókeverék pedig megegyezik a gélkromatográfiás elválasztásokhoz használt pufferrendszerekkel. A futtatás után a gélréteglapot a futtatókamrából kiemeljük, majd elvégezzük a lapok értékelését. A színes és fluoreszkáló anyagok esetén az értékelést közvetlenül végezhetjük, a gélrétegen szétválasztott fehérjék detektálására viszont a fehérjéket különböző módszerekkel megfestjük.

A gélréteg-kromatográfia alkalmazható peptidek és fehérjék molekulatömegének meghatározására, ugyanis **a fehérjék molekulatömegének logaritmusa** és egy adott rétegen, azonos idő alatt **megtett távolság között szoros az összefüggés**. Ennek alapján ismert molekulatömegű fehérjék futtatását követően megszerkesztett standardgörbe segítségével ismeretlen molekulatömegű fehérjék közelítő molekulatömege meghatározható.

A gélréteg-kromatográfia jelentős felhasználási területe a biológiai folyadékok fehérje-összetételének meghatározása, továbbá a patológiás fehérjék detektálása. Az ilyen bonyolult keverékek vizsgálata csak kétdimenziós módszerrel lehetséges, amikor is az első dimenzióban géliszűrést, a második dimenzióban pedig elektroforézist, illetve immunodiffúziót célszerű használni. Gélréteg-kromatográfiával vizsgálhatók többek közt az enzimek is, melyek közül többet (pl. *tejsav dehidrogenáz*, *ornitin karbamoil transzferáz*, *glioxalát reduktáz*, *savanyú és lúgos foszfatáz*) gélkromatográfiával határoztak meg. A fehérjék elválasztására eredményesen használható a vékony gélrétegben végzett **izoelektromos fókuszálás** is, amire általában poliakrilamid-gélt használnak. Ismeretes olyan módszer is, amellyel izoelektromos fókuszálás után az enzimek proteolitikus aktivitása is kimutatható.

A fehérjék elválasztására a folyadék-folyadék, valamint a folyadék-szilárd rétegekromatográfia a nagy molekulatömeg miatt nem igazán alkalmazható. Ugyan többen próbálkoztak cellulóz és szilikagél rétegen különféle fehérjepreparátumok és enzimek szétválasztásával, a rétegekromatográfia mégis csak a lipoprote-

inek vizsgálatára használható a nemfehérje rész jó kromatografálhatósága miatt. Így például sikeresen megoldották a hiperlipidémiás betegek lipoproteinjeinek szétválasztását szilikagélen. Hisztonfesték-komplexeiket és egyéb bázikus fehérjéket is sikerült szétválasztani cellulózzrétegen.

3.3.1.14. Roncsolás nélküli fehérjemeghatározás

A **roncsolásmentes fehérjemeghatározási eljárások** közül leggyakrabban a közeli infravörös tartományban reflexión (NIR) és transzmisszió (NIT), ezen kívül N-aktiváción, illetve mágneses rezonancián (NMR) alapuló módszerekkel határozzák meg az élelmiszerek fehérjetartalmát.

Az **infravörös spektroszkópiát** kiterjedten használják élelmiszerek fehérjetartalmának meghatározására. A módszer pontossága talán még nem éri el a klasszikus és jól bevált módszerekét, azonban a minta-előkészítés és a mérés kivitelezésének egyszerűsége miatt az ilyen típusú módszerek további elterjedése várható a gyakorlatban. Az **infravörös spektroszkópia a molekulák rezgési és forgási állapotában bekövetkező változásokat méri**, hisz ezeket is a kvantumfeltételek határozzák meg, ezért információt nyújtanak a szerkezetre. A rezgési energia változásait az infravörös fény elnyelése okozza, melynek hullámhossztartománya 2500–15 000 nm között van. A közeli infravörösben (NIR) működő készülékek az 1300–2400 nm, az infravörös (IR) transzmisszióban mérők pedig az 5700–9600 nm közötti tartományban működnek. Az infravörös spektroszkópia azonban praktikus okokból nem a hullámhosszal, hanem a hullámszámmal dolgozik, ami a centiméterben kifejezett hullámhossz reciproka. Ez az infravörös tartományra 600–4000 cm^{-1} .

A rezgési színek a molekulán belüli atomok vagy atomcsoportok egymáshoz viszonyított rezgésének eredménye, melyek normál-, illetve csoportrezgések lehetnek. A **normálrezgés** lehet **vegyértékrezgés**, ami a két atom vegyértékkötése irányában történik, **deformációs rezgés**, mely a vegyértékszög változásaival jár, és **vázrezgés**, amely az egész vázra kiterjed. A **csoportrezgések** meghatározott funkciós csoportok rezgései, amelyek alkalmasak lehetnek a mennyiségi meghatározásra. Az amino- és az iminocsoport, valamint a savamid-csoport (peptidkötés) infravörös elnyelési tartományai igen széles határt ölelnek fel (1400–3400 cm^{-1}), melyek közül kiválasztható az a hullámszám, amely a legpontosabb információt adja a fehérje mennyiségi meghatározása során.

A NIR reflexiós módszert elsősorban gabonaátvételnél, illetve olajos magvak minősítésekor alkalmazzák. A **készüléket ismert fehérje-összetételű, aprított mintákkal kalibrálják**, és meghatározzák a fehérjére jellemző hullámhosszon az optikai denzitás változása és a koncentráció közötti összefüggést. Ezen regressziós összefüggések lehetővé teszik ismeretlen minták fehérjetartalmának meghatározását akkor, ha a kalibrációt megfelelő anyagokkal végezték, és az ismeretlen minta fehérjetartalma a kalibrációs sor értékén belül esik. **Célszerű a**

kalibrációt minden élelmiszer-alapanyaggal külön-külön elvégezni, és az ismeretlen minta analízisét a tulajdonságokban hozzá legközelebb eső kalibrációs összefüggésre vonatkoztatni. Korábban a NIR-technikát elsősorban gabonamagvak és különböző olajos magvak fehérjetartalmának meghatározására használták, ma azonban már bonyolultabb összetételű élelmiszereket, sőt a tejet is lehet minősíteni vele.

A **közei infravörös tartományban transzmissziót** alkalmazó technikát (NIT) csak a közelmúltban fejlesztették ki, de máris több gyártó alkalmazza ezt az elvet a kifejlesztett készülékekben. A módszer **a mintán átmenő sugárzásból következtet a komponensek minőségére és mennyiségére**, ami korábban nem tapasztalt pontosságot eredményezett. A monokromátor segítségével egy teljes spektrumot vesznek fel, ami szintén növeli a pontosságot az egy-két hullámszámnál felvett adatokhoz képest. A módszer nem érzékeny a környezeti feltételekre, ezért szélsőséges körülmények között (pl. alacsony vagy magas hőmérséklet esetén) is pontos eredményeket ad.

Amennyiben nemcsak mennyiségi analízist, hanem **szerkezetvizsgálatot is akarnak végezni**, akkor az infravörös spektrum felvételéhez a szilárd anyagot alkáli-halogenidekkel (NaCl, KBr) porrá őrölve pasztillákba préselik, folyadékok esetében pedig két nátrium-klorid ablak között vékony filmet képeznek. Az említett alkáli-halogenideknek nincs infravörös abszorpciójuk. Ezt követően felveszik az infravörös spektrumot a $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ hullámszámtartományban, majd azonosítják a mérendő vegyületet a hullámszámokhoz rendelhető funkciós csoportok megállapításával. A funkciós csoportok számának és helyzetének spektrumból történő megállapítása után összeállítható az ismeretlen molekula szerkezeti képlete. Az infravörös spektroszkópia tehát használható ismeretlen szerves anyagok molekulaszerkezetének megállapítására, illetve a funkciós csoportok alapján élelmiszerek összetételének meghatározására.

Az **N-aktivációs módszer** lényege, hogy a nitrogéntartalmú anyagokat gyors neutronokkal bombázzák, aminek következtében a neutronok energiájának hatására a kötésben lévő nitrogénatomok gerjesztődnek. Mivel az N-aktiválódási energia a nitrogénatomok mennyiségével arányos, így ennek mérése lehetővé teszi a nitrogéntartalmú anyagok mennyiségének meghatározását. A módszer elterjedését gátolja a speciális eszközök és berendezések magas ára, ezért csak ott üzemeltethető gazdaságosan, ahol nagyobb mintamennyiségekkel (1–2 kg) lehet dolgozni, és nagy mennyiségű mintát kell minősíteni.

A **mágneses rezonancia** (NMR) mérésen alapuló analizátorokat elsősorban a kislekvenciájú (50–60 MHz) tartományban használják fehérjeanalízisre. A berendezés rendkívül gazdaságosan használható, és segítségével nemcsak a mennyiségi meghatározás végezhető el, hanem a kristályosodási tulajdonságokra, valamint a kötési módokra és energiákra is információt kaphatunk.

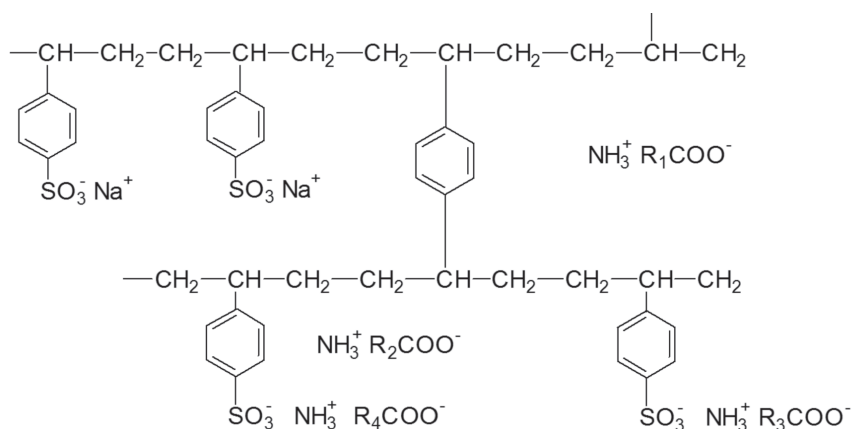
3.3.1.15. A fehérje aminosav-összetételének meghatározása

Élelmiszerek aminosav-összetételét a fehérje hidrolízise után, az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő automatikus aminosav-analizátorral, oszlop utáni származékképzéssel, a folyadékkromatográfia elvén működő nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával oszlop előtti származékképzéssel és fotometriásan határozhatjuk meg. A táplálkozással foglalkozó szakemberek számára rendkívül fontos a fehérje aminosav-összetételének ismerete, hisz az ember az esszenciális aminosavakat nem tudja előállítani, a nem fehérje nitrogén hasznosítására pedig gyakorlatilag nem képes. Optimális összetételű élelmiszerek előállítása csak az élelmiszer esszenciális, illetve a limitáló aminosavai ismeretében lehetséges. Az élelmiszerek aminosav-összetétele ismeretében – tudva az ember aminosav-szükségletét – biztosítani lehet az optimális fehérje- és energiaellátást.

Mind az ioncserés oszlopkromatográfia (IEC), mind a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (továbbiakban HPLC) a kromatográfiás elválasztások közé tartozik. E módszerek a szétválasztani kívánt komponensek eltérő szorpciós és deszorpciós tulajdonságain alapulnak. Ismerünk gáz-szilárd, gáz-folyadék, folyadék-szilárd, illetve folyadék-folyadék kromatográfiás elválasztási műveleteket. Az IEC a folyékony-szilárd, a HPLC a folyékony-folyékony oszlopkromatográfiás módszerek csoportjába tartozik. A kromatográfiás módszereknél az adszorpció, a megoszlás, illetve az ioncsere bír legnagyobb jelentőséggel. Mindegyik módszernél követelmény, hogy az álló fázis – szorbens oszlop – oldhatatlan legyen a mozgó fázisban, a szorbens irreverzibilisen ne kösse meg az elválasztandó anyagokat, ne bontsa el irreverzibilisen azokat, és ne lépjen reakcióba az eluáló oldattal. A kromatográfia mindegyik típusa tulajdonképpen az oldószer (mozgó fázis) haladási irányában az oszlopon keresztül egymás után bekövetkező szorpciós és deszorpciós folyamatok sorozata.

3.3.1.15.1. Az aminosav-összetétel meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával

Az IEC állófázisa mindig valamilyen ioncserélő anyag, amelynek vázán (mátrixán) kovalens kötéssel, elektrolitos disszociációra képes savas vagy bázisos jellegű **aktív csoportok** vannak. Ha az aktív csoport negatív töltésű savmaradék, **kationcserélő**, ha pozitív töltésű ion, akkor **anioncserélő gyantáról** beszélünk. Az ioncserés elválasztást meghatározza a kromatografálás hőmérséklete, az eluálóoldat ionkoncentrációja és pH-ja. Az ioncserélő oszlophoz Coulomb-féle erővel kötött szerves anyagok az elektrosztatikus kölcsönhatáson kívül apoláros adszorpcióval és hidrogénhidakkal is kötődhetnek. Az aminosavak (amfoter jellegűeknek köszönhetően) savas körülmények között pozitív ionok, amelyek szétválasztását Na-formában lévő, divinil-benzollal 4–8%-ban térhálósított szulfonált polisztirol műgyantán lehet elvégezni. Az ioncsere a következőképpen megy végbe:



Az aminosavak a molekula szerkezetétől és a benne lévő funkciós csoporttól függően különböző erőkkel kötődnek az ioncserélő oszlop negatív töltésű szulfonsav csoportjaihoz. Az ioncserélőn kötődött aminosav-molekulák szorpciója és elúciója folyamán különböző intenzitással jut érvényre az aminosavak sajátos töltése, pK-ja, molekulatömege és oldalláncának poláros vagy apoláros volta. Mindezen tulajdonságok együttes következménye **az aminosavak deszorpciós sorrendje**, amelyet **befolyásol a hőmérséklet, az eluáló pufferek pH-ja, valamint kationkoncentrációja**. A kromatográfia pontosságát meghatározza az ioncserélő műgyanta összetétele is, mely a divinil-benzol koncentrációval, a gyanta méretével és a gyantából készült oszlop nagyságával szabályozható. Az aminosavak ioncserés oszlopkromatográfiájához **divinil-benzollal különféle mértékben térhálósított szulfonált polisztirol műgyantát használnak, amelynek aktív csoportjai, a szulfonsavak, lehetnek hidrogén, nátrium vagy lítium formában**. Az élelmiszerek aminosav-összetételének meghatározása IEC-vel az alábbi folyamatokat foglalja magába:

- a vizsgálati anyag előkészítése,
- a minta hidrolízise, a hidrolizátum feldolgozása,
- az aminosavak szétválasztása IEC-vel,
- az aminosavak mennyiségi meghatározása fotometrián,
- az eredmény számolása, értékelése.

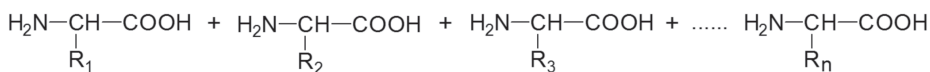
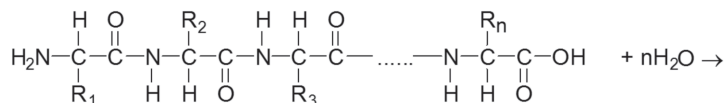
A felsoroltakból adódóan az aminosav-analízis lényege a következő: a megfelelően előkészített (aprított, homogenizált) vizsgálandó anyagban lévő fehérjét sósavval hidrolizáljuk, a hidrolizátum feldolgozása után az aminosavakat egymástól ioncserés oszlopkromatográfiával elválasztjuk, a szétválasztott aminosavat ninhidrinnel reagáltatjuk, a színintenzitás mérésével – ismert koncentrációjú ún. standard aminosavakhoz hasonlítva – az aminosav mennyiségét mérjük (40., 44. ábra). A folyamatok részletesebben az alábbiak.

A vizsgálati anyag előkészítése

Folyékony minta esetében (tej, vérszérum) turmixgépben, szilárd minta esetében darálóval olyan homogenitást, illetve aprítottságot kell elérni, hogy az aminosav-analízishez felhasznált mintamennyiség (10–100 mg) az egész vizsgált anyagot jól reprezentálja. Szilárd minta esetén a szemcseméretnek 0,1 mm-nél kisebbnek kell lennie. Amennyiben nagyobb pontosságra törekszünk, akkor a folyékony mintát kíméletesen szárítjuk, liofilezzük, majd a száraz őrleményből végezzük a bemérést. Ha a minta zsírtartalma meghaladja az 5%-ot, úgy azt Soxhlet-extrakcióval kivonjuk, majd zsírtartalmát az eredmény számolásánál figyelembe vesszük.

A minta hidrolízise, a hidrolizátum előkészítése analízisre

A fehérjék aminosav-összetételének megállapításához a polipeptidláncot alkotó aminosavakat a kötéseikből hidrolízissel fel kell szabadítani. A polipeptidlánc hidrolízisének vázlata a következő:



A fehérje aminosav-összetételének meghatározásakor használt különböző hidrolízismódszerek közül csak olyannak van jelentősége, amely:

- teljes hidrolízist ad, tehát az összes aminosav a legstabilabb kötésekből is felszabadul,
- az egyes aminosavakat nem vagy a lehető legkisebb mértékben károsítja,
- és az alkalmazott reagens nem hoz létre mellékreakciókat.

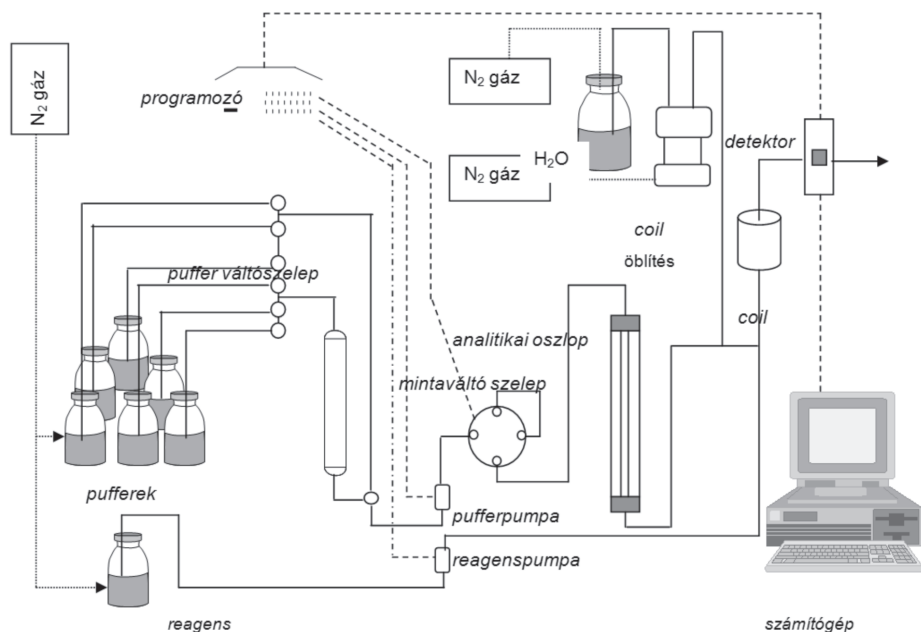
A fehérje teljes hidrolízisére ma leggyakrabban a savas hidrolízises módszereket alkalmazzák, csak a triptofán meghatározása során alkalmaznak lúgos hidrolízismódszert, mert a triptofán indolcsoportja savas körülmények között gyakorlatilag kvantitatíve elbomlik. Enzimés hidrolízist aminosav-meghatározásra csak ritkán használnak annak ellenére, hogy ez az eljárás károsítja legkevésbé a meghatározni kívánt aminosavakat.

A gyakorlatban leginkább elterjedt 6 M-os sósavas hidrolízis rövid leírása: 10 cm³-es orvosi ampullába a nyersfehérje-tartalomtól függően bemérünk 10–50 mg megfelelően előkészített mintát, majd 5 cm³ 6 M-os, előzetesen nitrogénnel átbuborékolgatott sósavat adunk hozzá. Leforrasztás után 110 °C-on (±2 °C) 24 órán át hidrolizáljuk, majd az ampulla tartalmát desztillált vízzel 50 vagy 100 cm³-es gömblombikba mossuk át, és rotációs gyorsbepárlón (N-atmoszférában) 50 °C-os vízfürdőt alkalmazva, szárazra pároljuk. A sűrűn folyós desztillációs maradék-

kot pH=2,2-es citrátpufferben oldjuk fel, majd 25 cm³-es mérőlombikba töltjük, finom pórusú szűrőpapíron, esetleg zsugorított üvegszűrőn szűrjük. A kapott oldat, amely -25 °C alatt mélyhűtő pultban hónapokig tárolható, megfelelő hígítás után kész az aminosavak analízisére. Nagy fehérjetartalmú minták esetén az oszlopra történő felvitel előtt a hidrolizátumot nagymértékben hígítani kell. Desztilláció helyett alkalmazható az ún. közömbösítéses módszer is. Ekkor az ampulla tartalmát pH=2,2-es citrátpufferrel 50 cm³-es mérőlombikba mossuk át, és a hidrolizátum pH-ját 4 M NaOH-dal, jeges vízben való hűtés mellett, pH=2,2-re állítjuk be. A fehérje hidrolízise során a triptofán indolcsoportja gyakorlatilag kvantitatíve elbomlik, a glutamin és az aszparagin savamidcsoportja ammóniára és a kérdéses aminosavra hasad, a szerin 10–15, a treonin 10–20%-ban bomolhat, a cisztin és a cisztein, valamint a metionin oxigén jelenlétében cisztein-szulfinsavvá és -szulfonsavvá, továbbá metionin-szulfoxiddá és -szulfonná alakulhat. A ciszteinből alanin és szerin, szénhidrátok jelenlétében glicin, a metioninból pedig homocisztein, homocisztin és glicin képződhet. Minimális mennyiségű bomlást szenvedhet a tirozin, a glutaminsav, az aszparaginsav, a prolin és az arginin is. Külön figyelmet érdemel a valin, az izoleucin és a leucin, mert ezen aminosavak kötése rendkívül nehezen szakadnak fel a hidrolízis során.

Az aminosavak szétválasztása ioncserés oszlopkromatográfiával

Az aminosavak szétválasztását nátrium formában lévő, divinil-benzollal 4%-ban térhálósított szulfonált polisztirol műgyantán végezzük növekvő pH-jú és növekvő nátriumion-koncentrációjú citrátpufferek segítségével. Ennek során **a savas- és hidroxi-aminosavak gyorsabban, a bázikus aminosavak lassabban válnak le az ioncserélő oszlopról, a semleges aminosavak pedig közbülső értéket foglalnak el a két szélső csoport között.** Az aminosavakat pH=2,2-es pufferben visszük fel az ioncserélő oszlopra, ezután a savanyú és semleges aminosavak szétválasztását 0,2 M pH=3,25 és pH=4,25 nátrium-citrát pufferekkel, a bázikus aminosavak szétválasztását pedig – az aminosav-analizátor típusától függően – 0,35–0,85 M nátriumion-koncentrációjú pH=5,28–6,50 pufferekkel végezzük. Az alkalmazott kromatografálási feltételek mellett (pufferösszetétel, hőmérséklet, áramlási sebesség) az aminosavak mindig ugyanolyan sorrendben eluálódnak az oszlopról; tehát elsőként mindig a legsavasabb aszparaginsav, utolsónak pedig a legbázikusabb arginin távozik. A pufferek pH-jának és nátriumion-koncentrációjának, valamint a kromatografálás hőmérsékletének változtatásával az aminosavak elúciós sorrendje megváltoztatható, illetve az elúciós idők optimalizálhatók.

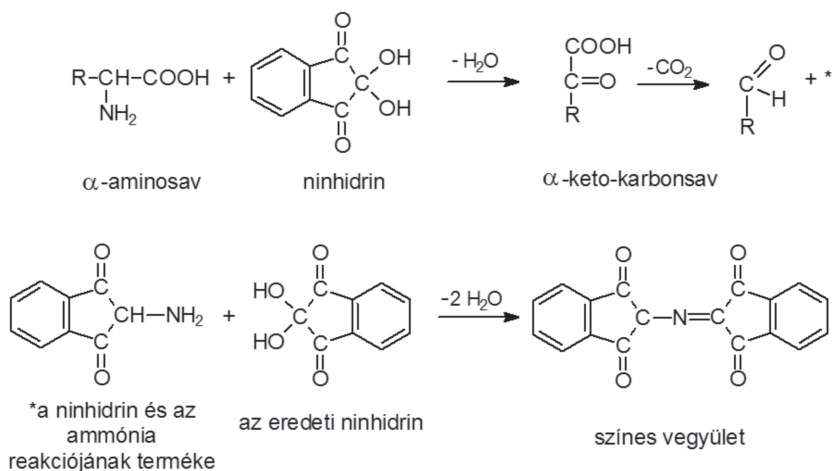


40. ábra. Az aminosav-analizátor sematikus rajza

Az aminosav és a ninhidrin reakciója

Az aminosavak oldata színtelen, ezért a meghatározáshoz az aminosavakat színessé kell tenni. **Az ioncserélő oszlopról távozó aminosavakat a keverőblokkban ninhidrinnel reagáltatva kékes, ibolyás-lilás színű vegyületet kapunk.** A ninhidrinoldattal összekevert aminosavakat tartalmazó puffer egy tefloncsőben 15–20 percet tölt el 100 °C-on, amelynek során a pH=5,5. Az aminosavakkal létrejött szín intenzitását átfolyó küvettás fotométerben, 570 nm-en mérjük, kivéve a prolint, amelyet 440 nm-en fotometrálunk, mert a prolin és a ninhidrin közti színreakció sárga színű vegyületet eredményez, amely vegyület fényelnyelési maximuma 440 nm. Az aminosavak és a ninhidrin közti reakció leegyszerűsítve a következők szerint megy végbe.

A reakció lényege, hogy a ninhidrin az első lépésben az aminosavat α -iminosavvá dehidrogénezi, majd az iminosav ammóniává és α -ketosavvá hidrolizál. A dehidrogénezést kiváltó redukált ninhidrin és egy másik molekula ninhidrin az ammóniával kondenzációs reakcióba lép; az így képződött kondenzációs termék, illetve annak módosulata a színes vegyület (41. ábra).



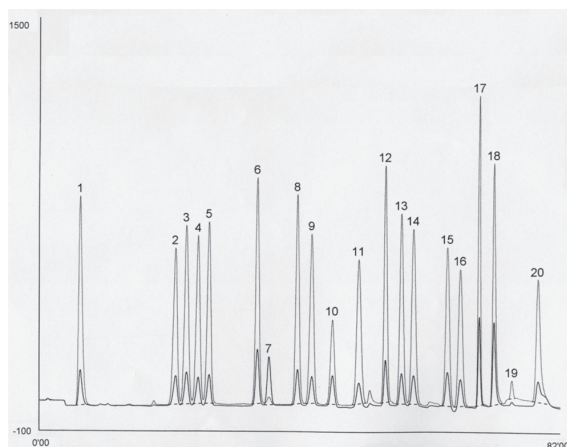
41. ábra. Az aminosavak és a ninhidrin reakciója

Az aminosav minőségi és mennyiségi meghatározása

Az ioncserélő oszlopról távozó, pufferben lévő aminosavak reakciója a ninhidrinnel a forró vízbe merülő teflonspirálban lejátszódik, majd a színes oldat a fotométer átfolyóküvetáján halad át. A fotométer által érzékelt fényabszorpciót a kompenzográf regisztrálja, amelynek eredménye a kromatogram. A kromatogramon a csúcs helye mindig az aminosavra, a csúcs nagysága, illetve a csúcs alatti terület pedig az aminosav koncentrációjára jellemző, azaz a kromatogramon az első csúcs mindig az aszparaginsavhoz, az utolsó pedig az argininhez tartozik, a csúcs nagysága pedig attól függ, hogy az aszparaginsav, illetve az arginin kis vagy nagy koncentrációban van-e jelen a mintában. Az aminosav-analízissel tehát el tudjuk dönteni, hogy milyen aminosavak vannak jelen a mintában (a csúcs helye alapján), és azt, hogy a jelen lévő aminosavnak milyen a koncentrációja. Az elkészült kromatogram csúcsainak megfelelő aminosav-mennyiségek kiszámítását ma már integrátorral, számítógéppel végezzük. Korábban megállapítottuk:

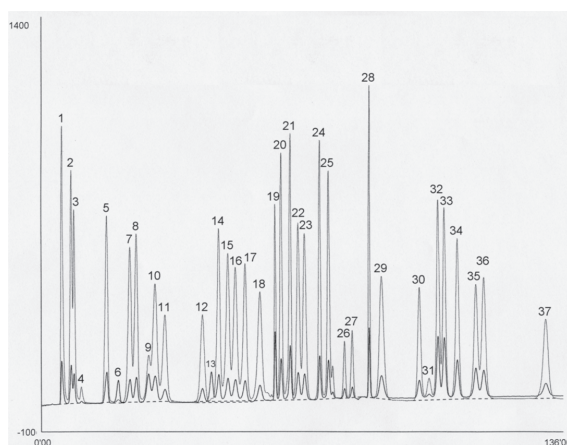
- az egyes csúcsok tényleges magasságát, a félmagasságnál mért szélességet, és kiszámítottuk a csúcs alatti területet,
- az egy csúcsához kapcsolható aminosav-mennyiségeket a standard kromatogram értékeihez viszonyítva számítjuk ki,
- végül az egyes aminosavat az eredeti mintára vonatkoztatva tömegszázalékban (g aminosav/100 g minta) adjuk meg.

A 42. ábra egy perhangyasavas oxidáció utáni fehérjehidrolizátum, a 43. ábra pedig egy fiziológiás oldat aminosavait mutatja.



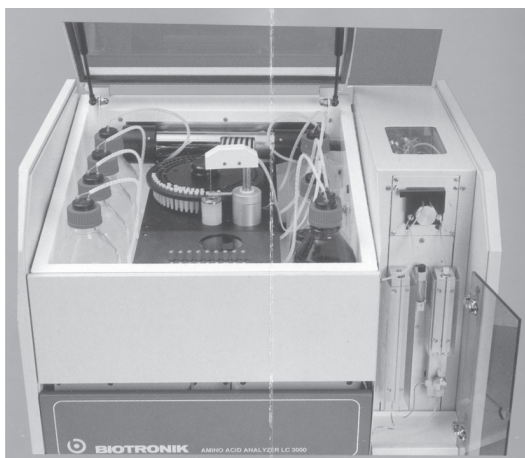
A számokhoz tartozó aminosavak a következők: 1. ciszteinsav, 2. metionin-szulfon, 3. aszparaginsav, 4. treonin, 5. szerin, 6. glutaminsav, 7. prolin, 8. glicin, 9. alanin, 10. cisztin, 11. valin, 12. metionin, 13. izoleucin, 14. leucin, 15. tirozin, 16. fenilalanin, 17. hisztidin, 18. lizin, 19. ammónia, 20. arginin

42. ábra. *A fehérjealkotó aminosavak kromatogramja perhangyasavas oxidáció után*



A számokhoz tartozó aminosavak a következők: 1. ciszteinsav, 2. taurin, 3. foszfoszerin, 4. karbamid, 5. aszparaginsav, 6. hidroxiprolin, 7. treonin, 8. szerin, 9. aszparagin, 10. glutaminsav, 11. glutamin, 12. α -amino-adipinsav, 13. prolin, 14. glicin, 15. alanin, 16. citrullin, 17. α -amino-vajsav, 18. valin, 19. cisztin, 20. metionin, 21. cisztation, 22. izoleucin, 23. leucin, 24. tirozin, 25. fenilalanin, 26. β -alanin, 27. β -amino-izovajsav, 28. γ -amino-vajsav, 29. klór-fenilalanin (belső standard), 30. etanolamin, 31. ammónia, 32. ornitin, 33. lizin, 34. hisztidin, 35. 1-metil-hisztidin, 36. 3-metil-hisztidin, 37. arginin

43. ábra. *Egy fiziológias oldat szabad aminosavainak meghatározása lítiumpufferek alkalmazásával*



44. ábra. Egy Biotronik aminosav-analizátor

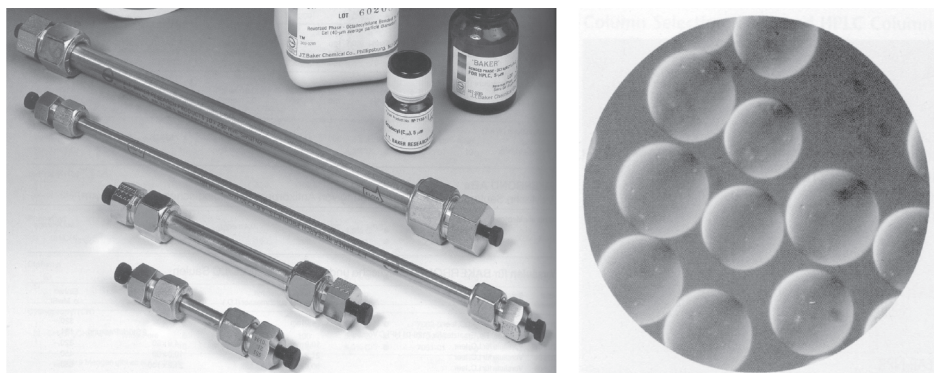
Amennyiben nemcsak az élelmiszerekben lévő aminosav mennyiségéről, hanem az élelmiszer-fehérje minőségéről is szeretnénk információt kapni, akkor az aminosav-összetételt g aminosav/100 g fehérje vagy g aminosav/16 g N egységben adjuk meg, amely megmutatja, hogy az élelmiszerekben lévő fehérje 100 grammja hány g aminosavat tartalmaz. Ezen az alapon az összes élelmiszer-fehérje összehasonlítható, hisz a vonatkoztatási alap minden esetben a fehérje.

Az aminosav-analízis érzékenységeinek növelésére ninhidrin helyett o-ftálaldehidet is használhatunk az aminosavak oszlop utáni származékának képzésére, mellyel az aminosav-analízis érzékenységét fokozhatjuk.

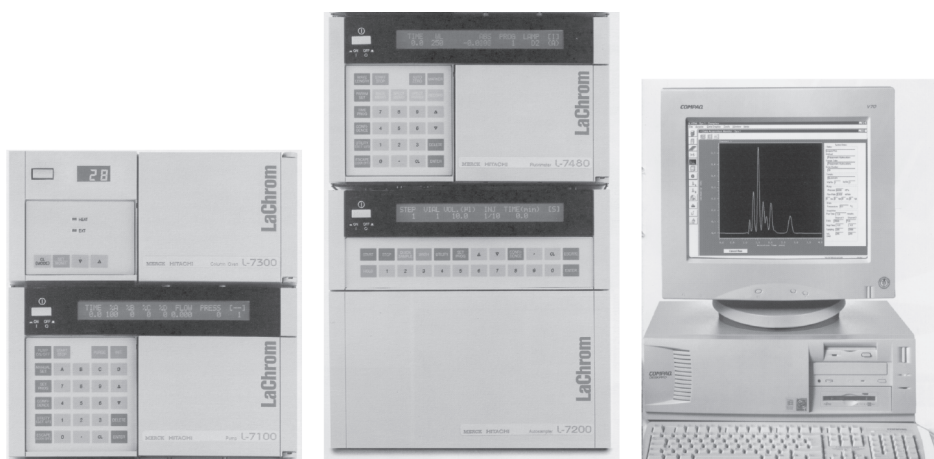
3.3.1.15.2. Az aminosav-összetétel meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát olyan nagyobb molekulatömegű, hőérzékeny anyagok vizsgálatára dolgozták ki, amelyek egyéb kromatográfias eljárásokkal (gázkromatográf, IEC) nem vagy csak nehezen vizsgálhatók. A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiánál **az álló fázis valamilyen nagy viszkozitású folyadék vagy nagy felületű anyag**, amelyet általában rozsdamentes acélcsőbe préselnek, amelyen keresztül az oldószert pumpa segítségével, nagy nyomáson áramoltatják. **Amennyiben az eluens kevésbé poláros, mint az állófázis, normál fázisú kromatográfiáról, amennyiben az eluens polárosabb, mint az állófázis, fordított fázisú kromatográfiáról beszélünk.** Az eluens folyamatosan áramlik keresztül az oszlopon, melybe a mintaadagoló segítségével juttatjuk be a szétválasztani kívánt komponenseket (45., 46. ábra). Az egyes komponensek eltérő sebességgel haladnak keresztül az oszlopon, és optimális esetben egymástól jól elkülönülve jelennek meg a HPLC-oszlop végén, ahol különböző módszerek-

kel detektálhatók. A detektor lehet látható vagy ultraibolya fotométer, de lehet fluoreszcenciás, elektrokémiai, esetleg törésmutató mérőműszer is. A detektort mindig a szétválasztandó komponensek tulajdonságai alapján választják meg.

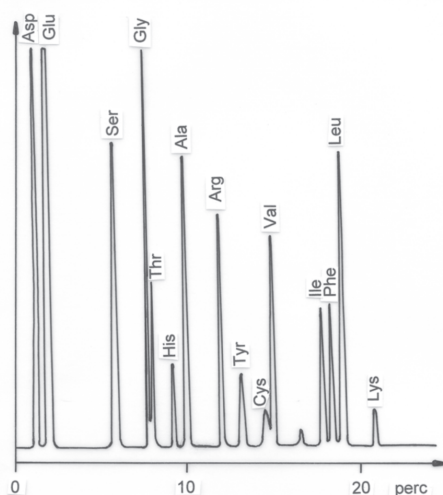


45. ábra. Különböző HPLC-oszlopok és a töltet

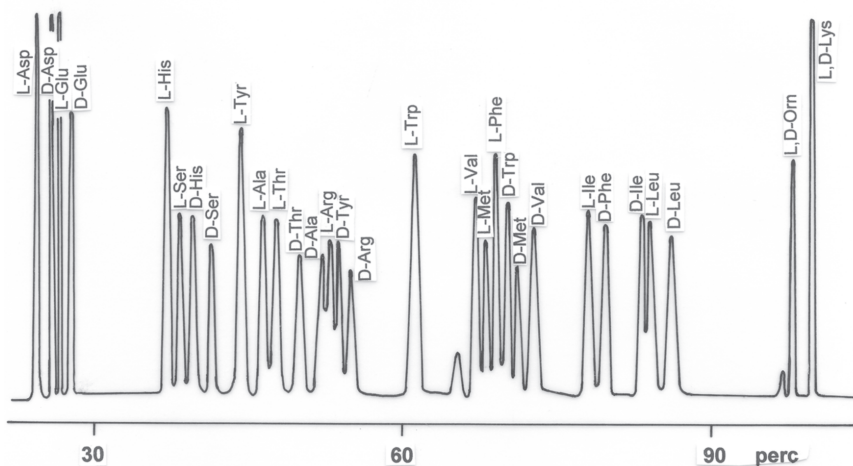


46. ábra. LaChrom nagyhatékonyságú folyadékkromatográf

Az aminosavak meghatározhatók nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, oszlop előtti származékképzéssel (47. ábra), amelyre az o-ftálaldehidet, a fluorenil-metil-kloroformátot és a fenil-izotiocianátot használják a legszélesebb körben. Detektálásra leginkább a fluoreszcens detektort használják, amelynek érzékenysége jobb, mint a látható, illetve UV-tartományban mérő detektoroké. Egy tipikus oszlop előtti származékképzéssel és HPLC-n történő szétválasztással kapott kromatogramot mutat a 47. ábra.



47. ábra. Az aminosavak szétválasztása oszlop előtti származékképzés után HPLC-vel

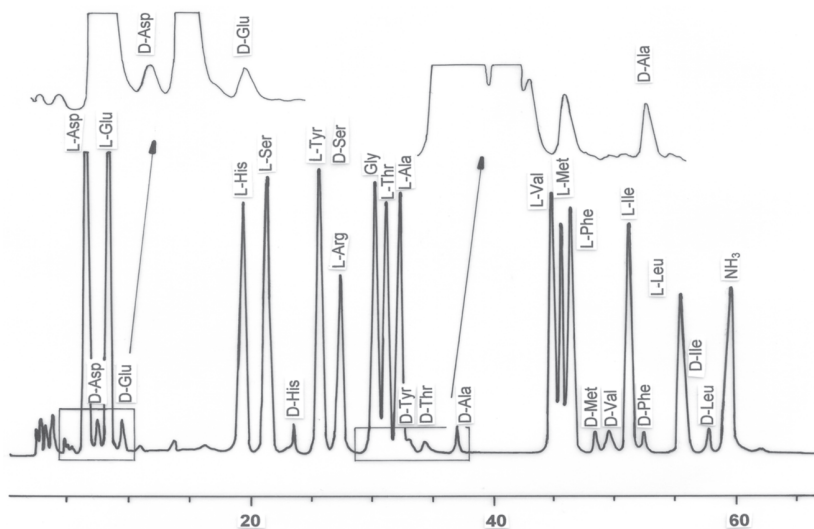


48. ábra. Az aminosav-enantiomerek szétválasztása OPA/TATG származékképzés után

Amennyiben az oszlop előtti származékképzésre használt reagens egy királis szénatomot is tartalmaz, akkor lehetőség van a D- és az L-aminosav enantiomerek szétválasztására és meghatározására nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. A D- és L-aminosavak származékképzésére leggyakrabban ebben az esetben az 1-(9-fluorenil)-etil-kloroformátot (FLEC) és az orto-ftálaldehidet, valamint a 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- β -D-glükopiranozidot (OPA/TATG) használ-

ják (48. ábra). Ezekkel a módszerekkel nemcsak azt tudjuk megmondani, hogy mennyi aminosav van jelen a mintában, hanem azt is mérni tudjuk, hogy a mintában milyen az L- és a D-aminosav koncentrációja. Ez különösen azért fontos, mert a különböző technológiai beavatkozások (magas hőmérséklet, lúgos kezelés, detoxikáció) hatására az L-aminosavak egy része átalakulhat D-aminosavvá, amelyeket az ember és a legtöbb állat nem tud hasznosítani, sőt káros hatásait is kimutatták az élő szervezetre. A D- és az L-aminosavak szétválasztására és meghatározására végzett analízis eredményeit mutatja a 48. ábra.

A legtöbb alkalmazás során csak pár aminosav D- és L-enantiomerjére vagyunk kíváncsiak, és nincs szükség az összes fehérjealkotó aminosav D- és L-enantiomerjének szétválasztására és meghatározására. Ezért a mozgófázis pH-jának és ionerősségének megváltoztatásával vagy másik szerves oldószer alkalmazásával és esetleg az analitikai oszlop méretének és töltésének változtatásával lehetőség van arra, hogy a kérdéses aminosav-enantiomer(ek)e)t szét tudjuk választani s meg tudjuk határozni. Természetesen ilyenkor minden alkalommal el kell végezni a rendszer optimalizálását a szükséges aminosav(ak)ra.



49. ábra. A kis mennyiségű D-aminosavak meghatározása a nagy mennyiségben jelen lévő L-aminosavak mellett

A 49. ábrán egy ilyen optimalizálás látható az aszparaginsav és a glutaminsav, valamint az alanin enantiomerének szétválasztására. A D-aszparaginsav és a D-glutaminsav, illetve a D-alanin a bakteriális fehérjeszintézis markerei, hisz a baktériumok sejtfalának peptidoglikánjai jelentős mennyiséget tartalmaznak e három aminosavból. Ebből a kromatogramból azonban az is látszik, hogy hús-szoros mennyiségű L-aminosav mellett nem okoz gondot a D-aminosavak elvá-

lasztása és meghatározása a hagyományos fluoreszcens detektor alkalmazásával. A D-aminosavak meghatározásának alsó határa fluoreszcens detektorral ebben a rendszerben 0,2–0,5 nM között van, bár a D-aszparaginsav és a D-glutaminsav esetén ez a koncentráció kisebb 0,1 nM-nál, a lizinnél pedig 2 nM körül alakul.

3.3.1.15.3. Az aminosav-összetétel meghatározása fotometriásan

3.3.1.15.3.1. A metionintartalom meghatározása

A platinacsoport fémei színes komplex jodidokat képeznek, amelyek szerves szulfidokkal vagy merkaptó-vegyületekkel (metionin és cisztein) elszíntelenednek, a kén tartalmú vegyületnek, mint ligandumnak, a platínával képzett komplexei révén.



A színes reagensoldat a metionintartalommal arányosan színtelenedik el, mivel a cisztein befolyása egyrészt kisebb a platina-jodid komplexre, mint a metioniné, másrészt a cisztein a feleslegben adott formaldehiddel lekötethető, így zavaró hatása kiküszöbölhető.

A meghatározás során az aminosavak ioncserés oszlopkromatográfiájánál leírt hidrolizátum pH-ját 4 M NaOH-dal jeges vízben való hűtés mellett, pH=8–10 körüli értékre állítjuk be, majd desztillált vízzel 25 cm³-es mérőlombikba moszuk, jelig töltjük és finom pórusú szűrőpapíron leszűrjük. Ebből az oldatból 1 cm³-t csiszolt dugós kémcsőbe pipetázunk, és 0,33 cm³ maszkírozóoldatot (50 cm³ 40%-os formaldehid-oldatot borát pufferrel 200 cm³-re egészítünk ki) mérünk hozzá. Összerázzuk, 1 cm³ 2 : 1 hígítású HCl-oldatot és 2 cm³ reagenst (15 cm³ 0,1% hexaklór-platinasav oldathoz 15 cm³ 3%-os kálium-jodid-oldatot adunk, és az elegyet desztillált vízzel 200 cm³-re töltjük fel) adunk a mintához (M). A reagensmintával egyidejűleg vakmintát is készítünk, ahol a reagens helyett 2 cm³ desztillált vizet adunk az elegyhez (MV). A „kiindulási” szín meghatározásához a minta helyett borátpuffert (38,14 g Na-tetraborátot és 0,3 g CaCl₂ · 2 H₂O-t feloldunk 500 cm³ desztillált vízben, pH=8,0, majd 1000 cm³-re töltjük fel) mérünk be (A). 10 perc elteltével mind a három oldat fényelnyelését egy órán belül 490 nm-en mérjük borátpuffer vakkal szemben. A kiértékeléshez az előző leírás szerint olyan kalibrációs görbét készítünk, amelyhez 10, 20, 30, 40 és 50 µg metionin/cm³ töménységű oldatokat használunk fel. A különböző töménységű metioninoldatok színtelenítő hatását a „kiindulási” szín és az egyes standardpontok abszorbancia-különbségeként ábrázoljuk a metioninkoncentráció függvényében.

Az eredmény az ismételhetőség követelményének megfelelő két párhuzamos mérés számtani átlaga az eredeti mintára vonatkoztatva, tömegszázalékban kifejezve. A „kiindulási” szín és a minta vakértékével csökkentett vizsgált oldat

abszorbancia-különbségéből $[E_A - (E_M - E_{MV})]$ a kalibrációs görbe segítségével határozzuk meg a mintaoldat metioninkoncentrációját az alábbi képlet segítségével:

$$\text{Metionintartalom\%} = \frac{C \cdot H}{m \cdot 10^4},$$

ahol: C = a mintaoldat metioninkoncentrációja ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$),

H = a vizsgált minta hígítása (cm^3),

m = a vizsgált minta tömege (g).

A minta zsírtalanítása, szárítása esetén a megfelelő faktorokat alkalmazva számítjuk ki az eredményt, melynek legnagyobb eltérése két párhuzamos mérés esetén az eredmény 10%-a lehet.

3.3.1.15.3.2. A cisztintartalom meghatározása

A cisztintartalmat egy gyors ioncserés oszlopkromatográfiás módszerrel, illetve fotometriás úton is meg tudjuk határozni.

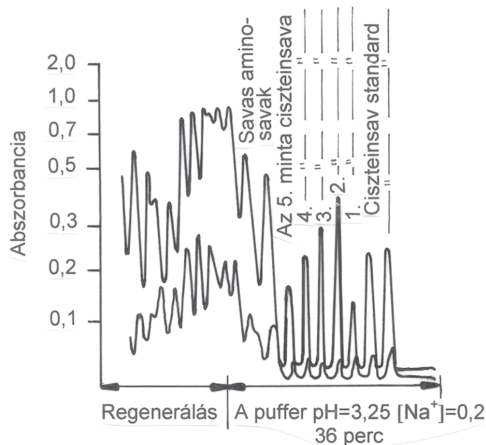
A cisztintartalom meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával

A módszer alkalmas élelmiszerek cisztintartalmának meghatározására. Mivel a kéntartalmú aminosavak és ezek közül is leginkább a cisztin rendkívül hajlamos az oxidációra, ezért az analízis közben fellépő veszteség elkerülése érdekében célszerű a kéntartalmú aminosavakat oxidált formában, így a cisztint ciszteinsav formában meghatározni. A fentiek miatt a fehérje hidrolízise előtt perhangyasavas oxidációval a cisztint és a ciszteint ciszteinsavvá alakítjuk át, majd a ciszteinsavat ioncserés oszlopkromatográfiával aminosav-analizátorral határozzuk meg.

A vizsgálati eljárás során 10 cm^3 -es ampullába (melyben a fehérje hidrolízise történik) a megfelelően előkészített mintából a várható cisztintartalomtól függően 30–40 mg-ot mérünk be, $0,4 \text{ cm}^3$ perhangyasavat pipetázunk hozzá, és 15 percre 50°C -os vízfürdőbe merítjük. Ezt követően -25°C -ra mélyhűtőben lehűtjük, megfagyasztjuk, a perhangyasavat fagyasztva szárítással (líofilezés) eltávolítjuk. (A perhangyasavat a következőképpen állítjuk elő: egy kémcsőbe 9:1 arányban elegyítünk 85%-os hangyasavat és 30%-os hidrogén-peroxidot, 3 percre 50°C -os vízfürdőbe merítjük, majd szobahőmérsékletűre hűtjük, frissen használjuk.) A perhangyasavval oxidált mintát 5 cm^3 6 M-os sósavval 24 órán át $110 (\pm 2)^\circ\text{C}$ -on hidrolizáljuk, majd a sósavat rotációs gyorsbepárlón ledesztilláljuk, vagy a hidrolizátum pH-ját 4 M NaOH-oldattal pH=2,2-re állítjuk be.

A ciszteinsav meghatározását egy olyan mintaadagolóval ellátott bármely aminosav-analizátorral elvégezhetjük, amelynél lehetséges az áramlási paraméterek lényeges megváltoztatása nélkül egymás után több mintát juttatni az ioncserélő oszlopra (50. ábra). Amennyiben csak 1 minta ciszteinsav-tartalmát határozzuk meg, akkor a ciszteinsav és az aszparaginsav között egy olyan üres területet kapunk a kromatogramon, ahova még az áramlási paraméterek figyelembevételével további 3–5 minta ciszteinsavának csúcsa beférne. Fenti lehetőségekkel élve 2–3 percenként öt különböző, perhangyasavval oxidált mintát juttatunk az

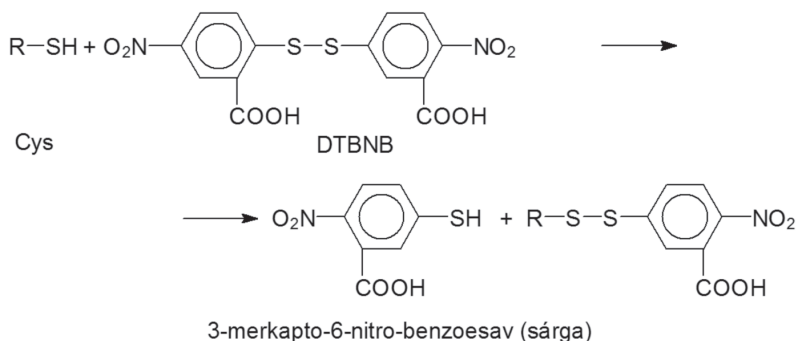
ioncserélő oszlopra, és az 5. minta ciszteinsav csúcsának megjelenése után – mivel itt már megjelenik az első minta aszparaginsav csúcsa – az analízist megszakítjuk, az ioncserélő oszlopot regeneráljuk, equilibráljuk, és folytatjuk a további minták analízisét. Gyakorlati szempontból célszerű egy ciszteinsav standarddal indítani a meghatározást, amelyet 4–5 minta betáplálása követ az aminosav-analizátor ioncserélő oszlopára. A minták elválasztásához az aminosav-analízisnél leírtaknak megfelelően, csak a pH=3,25 nátrium-citrát puffert használjuk (esetleg kissé megsavanyítva), a regenerálást 0,2 M NaOH-dal, az equilibrálást pedig ugyanezzel a pufferrel végezzük. A fenti módszer alkalmazásával az élelmiszerekben esetenként igen kis koncentrációban előforduló cisztin meghatározását az összes többi aminosavét elérő pontosságú szintre tudjuk emelni. Az eredményt két párhuzamos mérés átlagában, tömeg%-ban adjuk meg.



50. ábra. Cisztintartalom meghatározása perhangyasavas oxidációval és gyorsított betáplálással

A cisztintartalom meghatározása fotometrián

A módszer alkalmas élelmiszerek és élelmiszer-kiegészítők cisztintartalmának meghatározására. A meghatározás során a megfelelően hidrolizált mintából a cisztint ditioeritrittel (eritro-2',3-dihidroxi-1',4-ditolbután; DTE) vagy ditio-treittel (treo-2',3-dihidroxi-1',4-ditolbután; TDD) ciszteinné redukáljuk, majd a felesleges redukálószer nátrium-arsenittel megkötjük. A keletkezett ciszteint 5',5-ditio-bis-(2-nitro-benzoészav)-val (DTBNB) reagáltatjuk, és a keletkezett sárga színű 3-merkaptó-6-nitro-benzoészav mennyiségét 460 nm-en spektrofotometrián határozzuk meg. Mivel mind a redukció, mind a DTBNB-vel történő reakció a tiol-szulfid cserén alapszik, ezért a cisztein-, illetve cisztinmeghatározási módszer specifikus, és más aminosavak nem zavarják. A meghatározás során végbe-menő reakció a következő:



A vizsgálati eljárás során a pH=8-ra beállított, desztillált vízzel 25 cm³-re feltöltött és szűrt hidrolizátumból 0,5 cm³-t csiszolt dugós kémcsőbe pipettázunk, 4 cm³ 8,25 pH-jú 0,1 M TRIS-puffert, majd 1,4 cm³ 0,05%-os DTE-oldatot adunk hozzá. Ezekkel a lépésekkel a cisztint redukáljuk, aminek ideje 10 perc. Ezután 2 cm³ pH=8-as 0,25 M TRIS-puffert adunk a reakcióelegyhez, majd a redukálószer feleslegét 4 cm³ 0,8%-os Na-azénittal kötjük meg.

A redukálószer megkötését követően a reakcióelegyhez hozzáadunk 1,5 cm³ reagenst (100 mg DTBNB-t 250 cm³ acetát pufferben oldunk fel), majd a sárga színű oldat fényelnyelését 460 nm-en mérjük. A mintaoldattal együtt egy vakoldatot is készítünk, ahol a reagens helyett 1,5 cm³ desztillált vizet adunk a reakcióelegyhez. A vakmintára kapott értékkel minden esetben csökkentjük a minta abszorbanciáját. A kiértékelés kalibrációs görbe segítségével történik. Ennek során az előzőekben felsorolt reakciókat ismert koncentrációjú, cisztintartalmú oldatokkal végezzük el. Így 0,024 g cisztint 100 cm³ 8,25-ös pH-jú 0,1 M TRIS-pufferben feloldunk; a kalibrációs görbe felvételéhez ebből az oldatból 0,1; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 cm³-t pipettázunk csiszolt dugós kémcsőbe, és a reagensek hozzáadása után mérjük az oldat abszorbanciáját. Az értékeket a ciszt(e)inkoncentráció függvényében ábrázoljuk, és a hitelesítőegyenest használjuk fel az ismeretlen minta ciszt(e)inkoncentrációjának meghatározására. Az eredményeket két párhuzamos mérés átlaga alapján az eredeti mintára vonatkoztatva tömeg%-ban fejezzük ki, figyelembe véve a minta zsírtalanítása és szárítása közben beállt tömegváltozásokat, illetve a fotometrálas során végzett hígításokat.

3.3.1.15.3.3. A triptofántartalom meghatározása

A triptofántartalom meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiásan és fotometriásan is történhet élelmiszerekből, élelmiszerkiegészítőkből. A triptofánnal azért kell külön foglalkozni, mert a triptofán indolcsoportja savas hidrolízisnél (különösen nagy szénhidráttartalmú minták esetében) kvantitatíve elbomlik, ezért **a triptofán meghatározása során lúgos hidrolízist kell alkalmazni**. A lúgos hidrolízis történhet bárium- vagy nátrium-hidroxiddal, amelyet követhet mind ioncserés oszlopkromatográfiás, mind a para-dimetil-amino-benzaldehiddel és

nátrium-nitrittel képzett kék színű termék koncentrációjának spektrofotometriás meghatározása 590 nm-en.

A fehérje hidrolízisét mind NaOH-dal, mind $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -dal elvégezhetjük. A nátrium-hidroxidos hidrolízis során a 10 cm³-es ampullába a megfelelően előkészített mintából a nyersfehérje-tartalomtól függően 50–100 mg-ot mérünk be. 5 cm³-es 5 M NaOH-oldatot adunk hozzá, üvegapillárison keresztül 3–5 percen át nitrogéngázt vezetünk az ampullába, leforrasztjuk, szárítószekrényben a mintát 110 (±2) °C-on 24 órán át hidrolizáljuk, majd lehűlés után az ampulla tartalmát kevés pH = 4,25 nátrium-citrát pufferrel 25 cm³-es mérőlombikba mossuk. A lombikot jeges vízbe állítva a minta pH-ját tömény sósavval pH = 4-re állítjuk be, majd citrátpufferrel jelig töltjük. Az oldat centrifugálás, esetleg szűrés után kész a triptofán meghatározására.

A bárium-hidroxidos hidrolízis során a megfelelően előkészített mintából 10–100 mg-ot mérünk be, majd a nyersfehérje-tartalom függvényében 10 mg fehérjéhez 1,26 g $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -ot és 1,45 cm³ desztillált vizet mérünk hozzá. A bárium-hidroxid szobahőmérsékleten nem megy oldatba, kristályai leülepednek az ampulla aljára. Üvegapillárison keresztül 2–3 percig nitrogéngázt vezetünk az ampullába, leforrasztjuk, majd szárítószekrényben a mintát 110 (±2) °C-on 48 órán át hidrolizáljuk. Lehűlés után a hidrolizátumot 50 cm³-es Erlenmeyer-lombikba öntjük át, az ampullát 3 x 2 cm³ forró desztillált vízzel átöblítjük, 1 csepp fenoltaleinindikátort adunk hozzá, és 6 M sósavval közömbösítjük. A bemért $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -től függően 5–10 g vízmentes nátrium-szulfátot adunk a közömbösített oldathoz, majd a kivált bárium-szulfát csapadékot üvegszűrőn szűrjük vagy centrifugáljuk. A csapadékot 2 x 3 cm³ desztillált vízzel átmoszuk, az egyesített vizes fázisokat liofilizáljuk. A liofilizálás után kapott bepárlási maradékot pH = 4,25-ös nátrium-citrát pufferben feloldjuk, leszűrjük, és az így kapott hidrolizátum kész a triptofán meghatározására. A triptofán standardot az előzőekben leírtak szerinti munkafolyamatoknak vetjük alá.

A triptofántartalom mérése ioncserés oszlopkromatográfiával aminosav-analizátoron

Az elválasztás elve és körülményei megegyeznek az aminosav-analízisnél leírtakkal, azzal a különbséggel, hogy:

- 15 cm³-es rövid ioncserélő oszlopot használunk,
- az oszlop hőmérséklete 55–60 °C,
- eluensként a legmagasabb pH-jú és molaritású nátrium-citrát puffert használjuk.

Az eredményt két párhuzamos mérés átlagában, a minta tömeg%-ában adjuk meg.

A triptofántartalom mérése fotometriásan para-dimetil-amino-benzaldehiddel

A minta hidrolízise után a hidrolizátumból 5–10 mg fehérjének megfelelő anyagot mérünk be egy 20 cm³ csiszolt dugós kémcsőbe, majd 10 cm³-re egészítjük

ki kénsavas reagenssel, amely 0,3 g para-dimetil-amino-benzaldehidet tartalmaz 100 cm³ tömény kénsavban. A kémcsövet sötét helyen, szobahőmérsékleten, 16 órán át állni hagyjuk, majd 0,1 cm³ 0,045%-os nátrium-nitrit-oldatot adunk hozzá, összerázzuk és 30 percre sötét helyre tesszük. Ismételt összerázás után a kék színű oldat fényelnyelését 590 nm-en mérjük. A vakpróba a leírtak szerint készül para-dimetil-amino-benzaldehid nélkül. A kiértékelés kalibrációs görbe segítségével történik, amelyet előzetesen 20–150 µg triptofán/10 cm³ reakcióelegy-tartományban veszünk fel. Az ismeretlen minta triptofántartalmát a hitelesítő egyenes segítségével határozzuk meg, és két párhuzamos mérés átlaga alapján a minta tömeg%-ában fejezzük ki. A minta zsírtalanítása és szárítása esetén a tömegváltásokat figyelembe véve adjuk meg az eredményt az eredeti mintára.

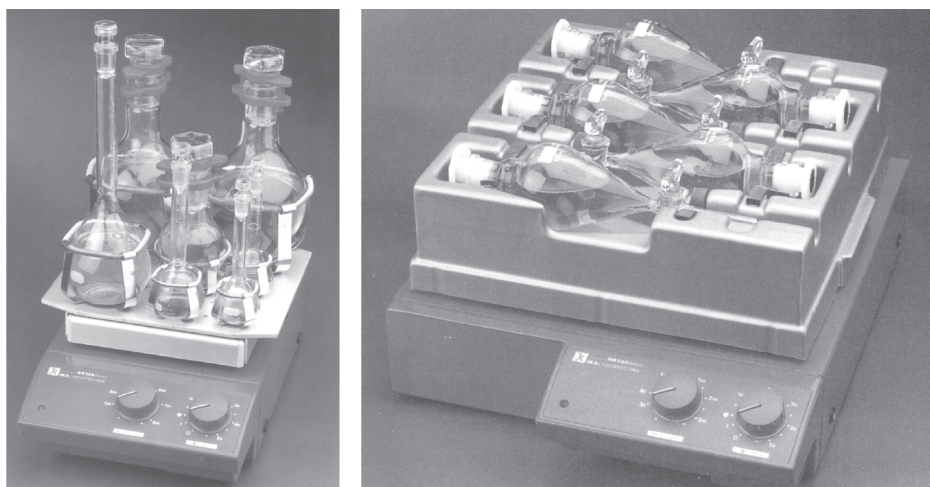
3.3.1.15.4. A hasznosítható lizintartalom meghatározása

A hasznosítható lizintartalmat ioncserés oszlopkromatográfiás módszerrel, illetve fotometriás módszerrel lehet meghatározni. Az első esetben megfelelő körülmények között 2,4-dinitro-1-fluor-benzollal reagáltatjuk a minta fehérjéjében lévő lizint, dinitro-fenil-ε-amino-lizin származékot létrehozva. Csak szabad ε-aminocsoporttal rendelkező lizin reagál a DNFB-vel, ezért a származék koncentrációjának meghatározása megadja a hasznosítható (szabad ε-aminocsoporttal rendelkező) lizin mennyiségét. E származék a savas hidrolízis során nem bomlik le, ezért aminosav-analizátorral meghatározható. Amennyiben az eredeti minta sósavas hidrolízise után meghatározzuk az összes lizintartalmat, majd az összes lizinből levonjuk a DNB-lizintartalmat, megkapjuk a hasznosíthatatlan lizin mennyiségét a mintában. Az élelmiszerek összeállításánál mindig a hasznosítható lizintartalommal kell számolni, hisz az ε-aminocsoportján blokkolt lizin sem az emberi, sem az állati szervezetben nem hasznosul. A hasznosítható lizintartalomban 10% csökkenés a fehérje jelentős hőkárosodására, valamint biológiai értékének nagymértékű csökkenésére utal.

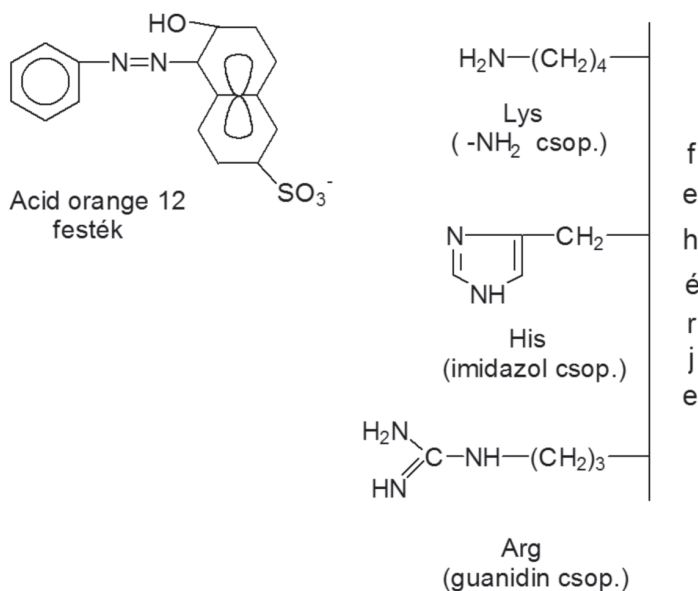
A hasznosítható lizintartalom meghatározása festékkötéses módszerrel

A módszer lényege az, hogy meg kell határozni a lizintartalom azon mennyiségét, amely képes szabad aminocsoportja segítségével a festék megkötésére. A megkötött festék mennyisége egyenesen arányos a szabad aminocsoportok számával, ez pedig a hasznosítható lizintartalommal. Az eljárás során a finomra őrölt mintából *A* vizsgálatnál a mintához Na-acetátot, ecetsavat és festékoldatot adunk, majd 1 órán keresztül rázógéppben rázatjuk (51. ábra). Ugyanehhez a mintához a *B* vizsgálatnál Na-acetátot, ecetsavanhidridet adunk, rázatjuk, hozzáadjuk a festékoldatot, majd ismételt ráztatás következik. Az *A* minta esetében a fehérje hisztidin, arginin és szabad ε-aminocsoportú lizinje, a *B* esetben pedig a lizin szabad ε-aminocsoportjának ecetsavanhidriddel történt blokkolása után a hisztidin és az arginin köti meg a festéket. A meg nem kötött festékoldat koncentrációját mindkét esetben 475 nm hullámhossznál spektrofotométeren mérjük, az

eredményt kalibrációs görbe segítségével számítjuk. A festékmegkötő lizintartalmat megkapjuk, ha az összes bázikus aminosav festékmegkötő kapacitásából levonjuk a lizin acetilezéssel történő blokkolása után a hisztidin és az arginin festékkötő kapacitását. A festékkötés mechanizmusát az alábbi összeállítás mutatja.



51. ábra. Függőleges és vízszintes rázógép



A módszer pontos leírása meghaladja a könyv kereteit.

3.3.1.16. Válogatott fejezetek

3.3.1.16.1. Az állati eredetű fehérjék keratintartalmának meghatározása

A módszer alkalmas élelmiszerek, elsősorban húslisztek toll-liszt tartalmának meghatározására. Az eljárás során a toll-liszt és a húsliszt aminosav-összetételében fennálló különbségeket kihasználva, a húsliszthez hozzákevert vagy a technológiai hiányosságok folytán a húslisztbe jutott keratinfehérje mennyiségét határozzuk meg. A cisztintartalom alapján 3–4%, az aminosavakból szerkesztett indexek alapján 2–3% toll-liszt húsliszthez történő hozzákeverése kimutatható. A meghatározás a különböző komponensek eltérő aminosav-összetételén alapszik, ezért a vizsgálati eljárás során az aminosav-analízissel kapcsolatos tudnivalókat ismételten már nem közöljük.

A vizsgált minták aminosav-összetételét 6 M-os sósavas hidrolízis után (110 °C, 24 óra) automatikus aminosav-analizátorral határozzuk meg. A tiszta toll és a tiszta húsminták aminosav-összetételét vizsgálva megállapítható, hogy a toll cisztintartalma átlagosan 11–12-szer, szerintartalma háromszor nagyobb, mint a húsé, ezzel ellentétben a hús metionintartalma hétszer, lizintartalma 7–8-szor, hisztidintartalma pedig négyszer nagyobb, mint a tollé. Fentiek alapján 3–4% toll-liszt húsliszthez történő keverése a cisztintartalom alapján kimutatható. Ha az aminosavakból képzünk egy olyan indexet, ahol a tollban lényegesen nagyobb koncentrációban előforduló cisztin és szerin a számlálóban, a húspanban lényegesen nagyobb koncentrációban előforduló lizin, hisztidin és metionin pedig a nevezőben található, ennek az indexnek a segítségével 2% toll-liszt húsliszthez történő keverése kimutatható.

Amennyiben a húsliszthez hozzákevert toll-liszt százalékanak függvényében ábrázoljuk az indexeket, akkor egy ismeretlen minta toll-liszt-tartalma mennyiségileg is meghatározható. Az előzőekben említett index ugyanis tiszta marhahúsra 1,2; 2% toll-liszttel tartalmazó marhahúsra 1,5; 5% toll-liszttel tartalmazó marhahúsra 2,0; 10% toll-liszttel tartalmazó marhahúsra 3,2; 20% toll-liszttel tartalmazó marhahúsra 6,6; 50% toll-liszttel tartalmazó marhahúsra 61,1; a 100% tollnál pedig 3100 körül van. A módszer alkalmazásával az 5%-nál nagyobb mennyiségű toll-liszt húsliszthez történő keverése nagy biztonsággal kimutatható, ami a gyakorlat szempontjából tökéletesen megfelel, hisz 5%-nál kevesebb toll-liszttel hamisítás céljából nincs értelme a húsliszthez hozzákeverni.

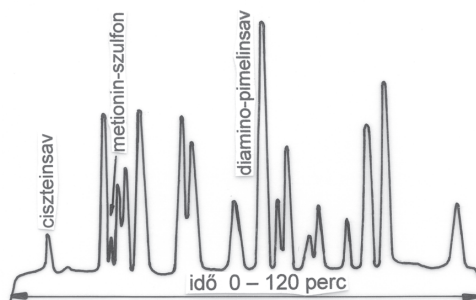
3.3.1.16.2. A bakteriális eredetű fehérje meghatározása

A módszer alkalmas élelmiszerek bakteriális eredetű fehérjetartalmának meghatározására. A diamino-pimelinsav, valamint a D-alanin (D-Ala), a D-glutaminsav (D-Glu) és a D-aszparaginsav (D-Asp) kizárólag a baktériumok sejtfalában lévő peptidoglikánokban fordulnak elő. Annak ellenére, hogy a DAPA és a három D-

aminosav mennyisége a sejtfalban a baktériumfajtól erőteljesen függ, a DAPA és a D-aminosavak részaránya a baktériumfehérjén belül nem változik, ezért ezek a markerek jól használhatók a bakteriális eredetű fehérje becslésére.

A diamino-pimelinsav tartalom alapján

A diamino-pimelinsav a metionin és az izoleucin között jelenik meg a kromatogramon, ezért a kéntartalmú aminosav oxidációját követően a 6 M-os sósavas hidrolízis után határozzuk meg a DAPA-t ioncserés oszlopkromatográfiával aminosav-analizátor segítségével. A metionin oxidációját követően, az igen kis koncentrációban jelen lévő DAPA meghatározására is lehetőség nyílik, hisz a metionin oxidációjával szabaddá válik a valin és az izoleucin közti terület, így a szomszédos aminosavak nem zavarják a kimutathatóság határán lévő DAPA meghatározását (52. ábra). A fentiek miatt a DAPA meghatározása előtt a mintát perhangyasavval oxidáljuk az alábbiak szerint: 10 cm³-es ampullába mintegy 10 mg fehérjét tartalmazó légszáraz mintát mérünk be, 0,1 mg-os pontossággal. A perhangyasavas oxidációt és a sósavas hidrolízist az aminosav-analízisnél leírtak szerint végezzük. A DAPA-tartalmat a komplett aminosav-analízisnek megfelelő körülmények között határozzuk meg, aminek során figyelemmel kell lenni a DAPA és az izoleucin tökéletes szétválására.



52. ábra. A diamino-pimelinsav mennyiségének meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával perhangyasavas oxidáció után

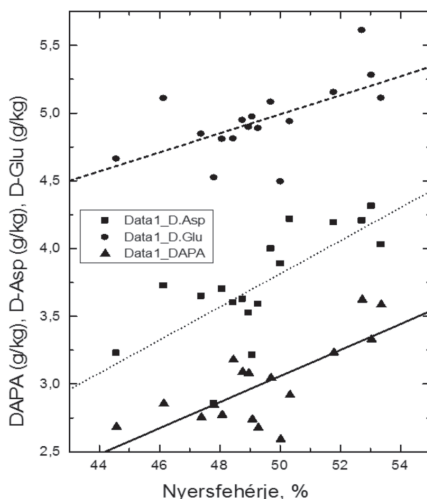
A DAPA-csúcsot az aminosav-analízisnél leírtak szerint értékeljük, az eredményt tömeg%-ban adjuk meg. Mivel a tiszta baktériumfehérje DAPA-tartalma 0,8–1,2% között van, nagyszámú mérés alapján átlagosan 1,0%, a bakteriális eredetű fehérjetartalmat tömeg%-ban az alábbi képlet alapján számíthatjuk:

$$\text{bakteriális eredetű fehérjetartalom \%} = \text{DAPA-tartalom \%} \cdot 100.$$

Tehát ha egy ismeretlen minta tömeg%-ban kifejezett DAPA-tartalmát 100-as „konverziós faktorrall” megszorozzuk, akkor a minta összesfehérje-tartalmán belül megkapjuk a baktériumok által szintetizált fehérjetartalmat.

A D-aminosav-tartalom alapján

A diamino-pimelinsav-tartalom mellett a D-alanin, a D-glutaminsav és a D-aszparaginsav is csak a baktériumok sejtfalában lévő peptidoglikánokban fordulnak elő, ezért alkalmas módszerrel mérve ezek is jól használhatók markerként a bakteriális eredetű fehérje kimutatására, illetve mennyiségi meghatározására. Az analitikai meghatározás szempontjából tekintve a D-aminosavak közül a D-aszparaginsav és a D-glutaminsav meghatározása lényegesen könnyebb, hisz a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározás során e két aminosav enantiomerjei közvetlenül a kromatogram elején jelennek meg, ezért ezek elválasztását és meghatározását semmi sem zavarja. (A módszer leírása a 3.3.1.15.2. fejezetben található.) Ezzel szemben az alanin a kromatogram közepén jelenik meg, és enantiomerjeinek szétválasztása és meghatározása lényegesen nehezebb, mint a másik két aminosavé. Az összefüggést a baktériumfehérje nyersfehérje-tartalma, valamint a fehérje diamino-pimelinsav-, D-aszparaginsav- és D-glutaminsav-tartalma között az 53. ábra mutatja.



53. ábra. Összefüggés a baktériumfehérje nyersfehérje-tartalma, valamint a fehérje diamino-pimelinsav-, D-aszparaginsav- és D-glutaminsav-tartalma között

Méréseink szerint a bendőbaktériumok által szintetizált fehérje D-aszparaginsav-tartalma 0,74%, D-glutaminsav-tartalma pedig 0,99%. Ezekből az adatokból olyan szorzófaktorok képezhetők, amelyeknek segítségével a baktériumok által szintetizált fehérje mennyisége meghatározható. Ezek a szorzófaktorok az D-aszparaginsav esetében $100/0,74 = 135$, a D-glutaminsav esetében $100/0,99 = 101$. Ebből következik tehát, hogy ha egy ismeretlen élelmiszer minta D-aszparaginsav-tartalmát 135-tel, D-glutaminsav-tartalmát 101-gyel megszorozzuk, akkor megkapjuk a baktériumok által szintetizált fehérje mennyiségét.

3.3.1.16.3. Speciális kromatográfiás módszerek az egyes aminosavak meghatározására

Rövidített lizin- és metioninmeghatározás

Élelmiszerek két legfontosabb esszenciális aminosava a metionin és a lizin. E két aminosav gyors meghatározására, nagyszámú élelmiszer tesztelésére egy olyan kromatográfiás módszert dolgoztak ki, melynek segítségével a metionin és a lizin a többi aminosavtól jól elválasztható, pontosan meghatározható. Az aminosavak IEC-s meghatározásánál alkalmazott ioncserélő műgyanta oszlop méretének csökkentésével, valamint az alkalmazott pufferek pH-jának és nátriumion-koncentrációjának megváltoztatásával elérték, hogy a savas aminosavak a metionin előtti semleges aminosavakkal összemosódva jelennek meg a kromatogramon, melyeket a metionin jól szeparálódott csúcsa követ. Ezt követően a metionin és a lizin közötti aminosavak ismét egymásba mosódnak, majd a lizin jól elváló, éles csúcs formájában jelenik meg. A lizin utáni aminosavakat az oszlopról NaOH-dal lemossák, majd az oszlop equilibrálása után folytatható a metionin és a lizin meghatározása. E módszerrel az aminosav-analízis idejét e két aminosavra mintegy negyedére tudjuk csökkenteni a módszer pontosságának csorbítása nélkül.

Triptofántartalom meghatározása IEC-vel, rövid oszlopon

Amint korábban már említettük, a triptofán indolcsoportja savas körülmények között gyakorlatilag teljesen elbomlik, ezért a fehérje triptofántartalmát csak bázikus hidrolízist követően lehet meghatározni. A hidrolizátum triptofántartalmának meghatározására kidolgoztak egy gyors módszert, amelynek lényege egy rövid ioncserélő oszlop, valamint relatíve magas pH-jú és nátriumion-koncentrációjú puffer. Ilyen kromatografálási körülmények között az összes fehérjeépítő aminosav összemosódik. Ezeket a többi aminosavtól jól elválóan követi a triptofán, amely így ioncserés oszlopkromatográfiával meghatározható. E módszerrel a vizsgálat idejét töredékére lehet csökkenteni.

Az előző két módszeren túl megoldást dolgoztak ki különböző anyagcserebetegségek gyors diagnosztizálására, amelynek során csak a fenilalanintartalmat vagy a leucin- és valintartalmat határozták meg vérszérumból.

3.3.1.16.4. A tej fehérjefrakcióinak szétválasztása és meghatározása

A módszer alkalmas a tej összesfehérje, valódifehérje, savófehérje, valódi savófehérje, kazein és nem fehérje nitrogén (NPN) szétválasztására és meghatározására. A tej fehérjefrakcióinak szétválasztásánál a kazein és a savófehérjék eltérő viselkedését használjuk ki, amelyet a tej pH-jának csökkenése idéz elő. A kazein pH=4,6 körül a tejből pelyhes csapadék formájában kicsapódik, míg a savófehérje és az NPN oldatban marad. A kazein centrifugálással történő eltávolítása után kapott savóból triklór-ecetsavval kicsapjuk a savófehérjét, melyet követően már csak a NPN marad oldatban. A kapott frakció fehérjetartalmát

Kjeltec gyors nitrogénelemzővel határozzuk meg, majd a fehérjefrakciók egy részét az így kapott adatokból számoljuk.



54. ábra. Laboratóriumi centrifuga

A tej fehérjefrakcióinak meghatározásánál a teljes tejet ($N\%-6,38 =$ összes-fehérje) 8000 fordulat/percen laboratóriumi centrifugán (54. ábra) 10 percig tartó centrifugálással zsírtalanítjuk, majd a tej pH-ját pH-mérő segítségével 4,55-re állítjuk be. A kicsapódott kazeint 8000 g-n centrifugálva választjuk el a tejsavótól. A tejsavóból ($N\%-6,38 =$ savófehérje) 12% triklór-ecetsavval eltávolítjuk a savófehérjét, meghatározzuk a szűrlet nitrogéntartalmát (NPN). A teljes tej nitrogéntartalmából levonva az NPN-t megkapjuk a tej valódifehérje nitrogéntartalmát. A savó nitrogéntartalmából levonva a NPN-t megkapjuk a valódi savófehérje nitrogéntartalmát. A teljes tej nitrogéntartalmából levonva a savó nitrogéntartalmát megkapjuk a kazein nitrogéntartalmát. A frakciók nitrogéntartalmát 6,38-as konverziós faktossal szorozva kapjuk meg azok fehérjetartalmát. A tejminták és a különböző frakciók nitrogéntartalmát Kjeltec gyors nitrogénelemzővel határozzuk meg. Az eredményt párhuzamos vizsgálat után az eredeti mintára vonatkoztatva tömegszázalékban adjuk meg.

3.3.1.16.5. A masztitiszes tőgyből származó tej kimutatása a szabad D-aminosav-tartalom alapján

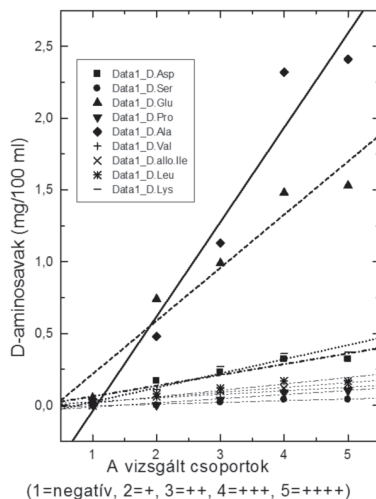
Az egészséges tej nem tartalmaz szabad D-aminosavakat, míg tőgygyulladás hatására megnő a tej szabad D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-koncentrációja, és ezen D-aminosavak mellett nyomokban még D-allo-izoleucint, D-prolint, D-valint, D-leucint és D-lizint is ki lehet mutatni a gyulladásos tőgyből származó tejből. A szabad D-aminosavak mennyiségének meghatározásával az egészséges tőgyből származó tejhez hozzáfejt kóros tőgyből származó tej kimutatható, részaránya becsülhető. A D-aminosavakon túl a tej összes szabadaminosav-tartalma is lényegesen megnő tőgygyulladás hatására.

A módszer a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmának meghatározásán alapul. A szabad aminosavakat IEC-vel, a szabad D-aminosavat pedig HPLC-vel határozzuk meg. Az eljárás során a tejmintákat a mintavétel után jeges vízben hűtjük, majd 2 órán belül mélyhűtőbe ($-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) rakjuk, s ott tároljuk az analízisre történő előkészítésig. A tejmintákat felolvasztás és $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra történő felmelegítés után 5000 g-n 30 percig centrifugáljuk, amelynek során egyrészt eltávolítjuk a tej alakos elemeit, amelyek leülepednek a centrifugacső aljára, másrészt elvégezzük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően 50 cm^3 mintához 50 cm^3 25%-os triklór-ecetsavat adunk, majd 20 perc állás után a kivált csapadékot $10\ 000\text{ g-n}$ 30 percig centrifugáljuk. A kapott felülúszó pH-ját az összes szabad aminosav meghatározása esetén 4mM NaOH-dal $\text{pH}=2,2$ -re, a D-aminosavak meghatározáskor pedig $\text{pH}=7$ -re állítjuk be. Az így kapott oldatokat liofilezővel $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os tálcáfűtést alkalmazva beszárítjuk, majd az összes szabad aminosav-meghatározáskor a beszárított anyagot 10 cm^3 $\text{pH}=2,2$ -es citrátpufferben, a szabad D-aminosav-meghatározáskor pedig 1 cm^3 bidesztillált vízben oldjuk fel. Az így előkészített mintákat $-25\text{ }^{\circ}\text{C-on}$ tároljuk az analízisek megkezdéséig.

A mastitest próba magasabb fokozataiban a szabad aminosav mennyisége jelentős mértékben megnő. A +-es minősítésű tej 2-szer, a ++-es 3,5-szer, a +++ és ++++-es minősítésű pedig 5–5,5-szer több szabad aminosavat tartalmaz, mint a normális, mastitest próba alapján negatívnak mért tej. A mastitest próba alapján negatívnak tekintett minták nem tartalmaznak szabad D-aminosavat. A pozitív minősítésű tejmintákban a D-aszparaginsav, D-glutaminsav és a D-alanin mellett megjelenik a D-valin, a D-allo-izo-leucin, a D-leucin és a D-lizin is. A ++, +++ és ++++ mintákból még további két aminosavat, a D-szerint és a D-prolint is ki lehet mutatni. A szabad aminosav és a szabad D-aminosavak mennyisége az egészséges és a mastitest próba alapján kórosnak minősített tejekben a következő (55. ábra, 10. táblázat):

10. táblázat. A szabad aminosavak és a szabad D-aminosavak mennyisége az egészséges és a mastitest próba alapján kórosnak minősített tejekben

Szabad aminosavak összege (mg/100 cm ³)	Vizsgált csoportok a mastitest próba alapján				
	negatív	+	++	+++	++++
	3,387	8,744	12,614	17,569	18,300
Szabad D-aminosavak mennyisége (mg/100 cm ³)	Vizsgált csoportok a mastitest próba alapján				
	negatív	+	++	+++	++++
D-Asp	-	0,17	0,23	0,32	0,32
D-Ser	-	-	0,02	0,04	0,04
D-Glu	-	0,74	0,99	1,48	1,53
D-Pro	-	-	0,04	0,09	0,10
D-Ala	-	0,48	1,13	2,32	2,41
D-Val	-	0,08	0,09	0,09	0,12
D-allo-Ile	-	0,08	0,10	0,12	0,15
D-Leu	-	0,06	0,12	0,17	0,17
D-Lys	-	0,11	0,27	0,36	0,37
Szabad D-aminosavak összege	-	1,72	2,99	4,99	5,21



55. ábra. Az egészséges és a mastitest próba alapján gyulladásoos tőgyből származó tej D-aminosav-tartalma

A szabad D-aminosav-tartalom alapján el lehet dönteni azt, hogy a vizsgált elegytej tartalmaz-e kóros tőgyből származó tejet, ha ugyanis az elegytejből ki lehet mutatni D-aminosavat, akkor az elegytej biztosan tartalmaz kóros tőgyből származó tejet is. Amennyiben a vizsgált tejminta szabad D-aminosav-összegét (vagy külön-külön az egyes aminosavat) összehasonlítjuk a mastitest próba különböző fokozatainál kapott értékekkel, akkor az eltérő összetételű tej mennyiségének becslésére is lehetőség nyílik.

3.3.1.16.6. A karbamidtartalom meghatározása

Élelmiszereink közül a tejpor tartalmaz jelentős mennyiségű karbamidot. A karbamidtartalom meghatározása során a minta vizes kivonatához 4-dimetil-aminobenzaldehyd oldatot adunk, s a kialakuló sárga szín intenzitását spektrofotométeren 440 nm hullámhosszon mérjük. A vizsgált eljárás során elsőként egy karbamidkalibrációs sort készítettünk. Ennek során lemérünk 1 g karbamidot 0,2 mg pontossággal, kb. 200 cm³ vízben feloldjuk, egy 500 cm³-es normál lombikba töltjük, összerázzuk és desztillált vízzel jelre állítjuk. A karbamid törzsoldatból 2, 4, 6, 8, 10, 12 cm³-t mérünk 100 cm³-es normál lombikokba, desztillált vízzel jelre töltjük, elegyítjük. E kalibrálóoldatok 5 cm³-re 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 és 1,2 mg karbamidot tartalmaz. A minta vizes kivonatának elkészítése során lemérünk 2 g vizsgálati anyagot 0,1 mg pontossággal, ha a várható karbamidtartalom 3% alatti, valamint 1 g vizsgálati anyagot, ha a várható karbamidtartalom 3% felett van. 500 cm³-es Stohmann-lombikba helyezzük, hozzáadunk 1 g aktív szenet, 250 cm³ desztill-

lált vizet, 5 cm³ cink-acetát és 5 cm³ kálium-hexaciano-ferrát(II)] oldatot. Rázógépen 30 percig rázatjuk, majd desztillált vízzel jelig töltjük, elegyítjük, ülepedés után szűrjük, a várható karbamidtartalom függvényében a szűrletet hígítjuk úgy, hogy a vizes kivonat 100 cm³-re 10–20 mg karbamidot tartalmazzon.

A karbamidtartalom mérése során 5–5 cm³-t pipettázunk a karbamid kalibrációs sorból, a minta vizes kivonatának szűrletéből, valamint a vakmintából csi-szolt dugós kémcsövekbe, hozzáadunk 5 cm³ 4-dimetil-amino-benzaldehid oldatot. Alaposan összerázzuk, 10 percig állni hagyjuk, utána 440 nm hullámhosszon mérjük az abszorbanciát. Vakmintaként olyan oldatot használunk, amely a minta kivételével valamennyi felhasznált vegyszert tartalmazza. A karbamidtartalmat (K) a következő képlettel számoljuk és tömegszázalékban fejezzük ki:

$$K = \frac{E_M}{E_K \cdot m},$$

ahol: E_M = a minta vizes kivonatának abszorbanciája,
 E_K = a 0,1 mg karbamidra számított átlagos abszorbanciaérték, amely a kalibrációs sor abszorbanciájának 2, 4, 6, 8, 10 és 12-vel történő osztásával kapott hányadosok számtani középértéke,
 m = a vizsgált bemért minta tömege (g).

A karbamidtartalmat két párhuzamos meghatározás középértékeként, egytizedes pontosságra adjuk meg; a meghatározás során a megengedett legnagyobb eltérés az eredmény 5%-a.

3.3.2. Zsírtartalom és zsírsavösszetétel meghatározása

3.3.2.1. A nyerszsírtartalom meghatározása

Élelmiszerek nyerszsírtartalmát **Soxhlet-féle visszafolyó készülékben, éteres vagy petroléteres kivonás után határozzuk meg.** Az extrahálószer elpárologatása után visszamaradó anyag tartalmazza a valódi zsírokat, a foszfatidokat, a viaszokat, a szterinszármazékokat, a színanyagokat és az illózsírsavak nagyobbik részét. A nyerszsírtartalom meghatározása során 1 mg pontossággal lemérünk 5 g vizsgálandó anyagot (m_0), zsírmentes extrahálóhüvelybe helyezük, és a hüvelyt zsírmentes vattával lezárjuk. A vizsgálandó mintát tartalmazó hüvelyt az extrahálókészülék (56. ábra) középrészébe helyezük, majd összekapcsoljuk a 4–5 szem horzsakövet tartalmazó, előre lemerített (m_2) és n-hexánnal vagy petroléterrel 3/4 részig megtöltött lombikkal. A hűtő felhelyezése után a mintát 6 órán keresztül olyan fűtéssel extraháljuk, hogy a szivornya óránként legalább tízszer cserélje az oldószert. Az extrahálás során a minta mindig friss extrahálószerrel érintkezik, mert a zsíros oldószer lombikba történő visszaszívása után onnan csak az extrahálószer tud elpárologni, hisz az extrahált zsírok forráspontja többszöröse az oldószérének. Ezzel az eljárással rendkívül hatékony kioldást lehet elérni viszonylag csekély oldószer alkal-

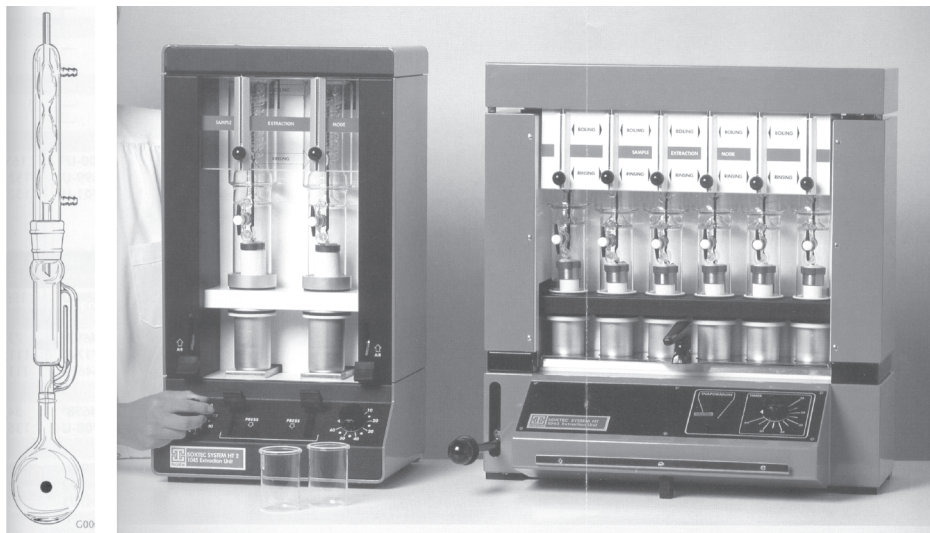
mazásával. Hatórás extrahálást követően, a mintát tartalmazó hüvely eltávolítása után az oldószert a lombikból a középészbe desztilláljuk, és onnan folyamatosan eltávolítjuk. A zsírt és az oldószer maradékait tartalmazó lombikot egy órára 98 °C-os (± 2 °C) hőmérsékletű szárítószekrénybe helyezzük, majd exsikkátorban hűtjük, mérjük. Lemérés után további fél órán át szárítjuk. Kihűlés után mérjük, majd ezeket a műveleteket mindaddig ismételjük, míg a két utolsó mérés közötti eltérés kevesebb lesz 1 mg-nál. Az utolsó mérés eredménye (m_1). A nyerszsírtartalmat a következő képlet szerint számítjuk és tömegszázalékban fejezzük ki:

$$\text{nyerszsír \%} = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \cdot 100,$$

ahol: m_0 = a vizsgálatra bémért minta tömege (g),
 m_1 = a lombik, a horzsakő és a száraz kivonat tömege (g),
 m_2 = a lombik és a horzsakő tömege (g).

A nyerszsírtartalmat két párhuzamos meghatározás eredményének középértékeként egytizedes pontossággal adjuk meg. A párhuzamos vizsgálat között megengedett legnagyobb eltérés 0,3% nyerszsír.

Állati eredetű élelmiszerek esetében a zsírtartalmat ezzel a módszerrel rendkívül nehéz a minta egyéb komponenseitől elválasztani, ezért ilyen esetekben a Soxhlet-extrakciót megelőzően a mintát sósavas kezelésnek kell alávetni. A sósavas kezelés során a zsír elválk a minta egyéb alkotórészeitől, szűrőpapíron a szabaddá vált zsír és a minta egyéb részecskéi könnyen felfoghatók, ezt követően az előzőekben ismertetett módszer szerinti Soxhlet-extrakció elvégezhető.



56. ábra. Egy Soxhlet-készülék és egy Tecator Soxhlet zsírmeghatározó berendezés

3.3.2.2. A peroxidszám és a savszám meghatározása

A zsírok tárolása során bekövetkező minőségi romlást okozó elváltozásokat gyűjtő néven avasodásnak hívjuk. Ez lehet egyszerű hidrolízis vagy oxidatív avasodás, melynek során víz és katalizáló anyagok (fémionok) jelenlétében, valamint a mikroorganizmusok *lipáz* enzimjeinek hatására a zsírok szabad zsírsavakra és glicerinre bomlanak. A szabad zsírsavak lúgot kötnek meg, így a lúgfogyasztás meghatározásával megállapítható a **savszám**.

A telítetlen zsírsavak kettős kötéseai igen reakcióképesek, különösen a többszörösen telítetlen olajok hajlamosak oxidatív avasodásra, peroxidok képzésére. A peroxidok arányát jellemző ún. peroxidszám a peroxidfázisban hirtelen megemelkedik, majd egy csúcs után csökken, mert a peroxid helyén aldehid vagy keton képződik. Az erélyes oxidáló hatású peroxid a kálium-jodid-oldatból jódot szabadít fel, és ennek jodometriás titrlásával a **peroxidszám** meghatározható.

A peroxidszám, illetve a savszám meghatározásához a zsírkinyerést a következők szerint végezzük. A vizsgált anyag zsírtartalmának függvényében 200–300 g mintát teszünk egy kb. 5 cm belső átmérőjű és 1 m hosszú üvegcsőbe, folyamatosan annyi petrolétert öntünk rá, hogy a lecsepegő zsíroldat térfogata 150–200 cm³ legyen. A hidegen végzett extrakcióval megakadályozzuk a zsír minőségének változását a zsírkinyerés során. A másfél óra alatt általában letisztult oldatot zsírlombikba öntjük át, majd a petrolétert a zsírról az oldat felhabzásáig ledesztilláljuk. A petroléteres zsíroldat felhabzása után a desztillálást befejezzük. A továbbiakban a lehűlt petroléteres zsíroldatot használjuk a további vizsgálatához, amelynek zsírtartalmát a következők szerint határozzuk meg.

A száraz, 1 mg pontossággal lemerő (A) csiszoltfedelű bemérő edénybe 1 cm³-t pipettázunk a vizsgált petroléteres oldatból, és 1 órára 100 °C-os szárítószekrénybe tesszük. Lehűlés után mérjük az együttes tömeget (B), amelynek segítségével az 1 cm³-es petroléteres zsíroldat zsírtartalma (Zs) g-ban a következő szerint számítható:

$$Zs = B - A.$$

Az így kapott hideg zsíroldatból végezzük el a peroxidszám és a savszám meghatározását.

Peroxidszám meghatározása

A petroléteres zsíroldatból osztott pipettával 2 cm³-t pipettázunk egy 250–300 cm³-es jódszám lombikba, hozzáadunk 20 cm³ ecetsav–klóroform 2:1 arányú elegyét és 2 g porított kálium-jodidot, majd ötpercnyi állás után vízfürdőn forrásig melegítjük (amíg a légbuborékok a felszín 2/3-át be nem borítják). Ezután hideg vízben gyorsan hűtjük, és már hűtés közben 25 cm³ 1%-os kálium-jodid-oldatot adagolunk hozzá. Egy cm³ keményítőindikátor-oldat jelenlétében a kiált jód 0,01 M Na₂S₂O₃-mérőoldattal erős rázogatós közben megtitrljuk. A peroxidszámot az alábbi képlettel számítjuk, és cm³/100 g egységben adjuk meg:

$$P = \frac{A \cdot 10}{Z_s \cdot 2},$$

ahol: P = peroxidszám, amely megadja az 1000 g zsír által leválasztott jóddal egyenértékű 1 M Na₂S₂O₃ cm³-einek számát,
 A = a fogyott 0,01 M-os pontos koncentrációjú Na₂S₂O₃ (cm³),
 Z_s = az 1 cm³ petroléteres zsíroltatban lévő zsír mennyisége (g).

A savszám meghatározása

Az előzőekben ismertetett módon kapott petroléteres zsíroltatból beosztásos pipettával 1 cm³-t mérünk be egy 250–300 cm³-es Erlenmeyer-lombikba, majd hozzáadunk 10 cm³ dietilétert. Az oldathoz 2–3 csepp 1%-os fenoltaleinindikátor-oldatot adunk, és 0,1 M-os etil-alkoholos KOH mérőoldattal megtitráljuk. A savszámot az alábbi képlettel számítjuk, és mg/g-(mgKOH/1g zsír) egységben adjuk meg:

$$S = \frac{a \cdot 5,611}{Z_s},$$

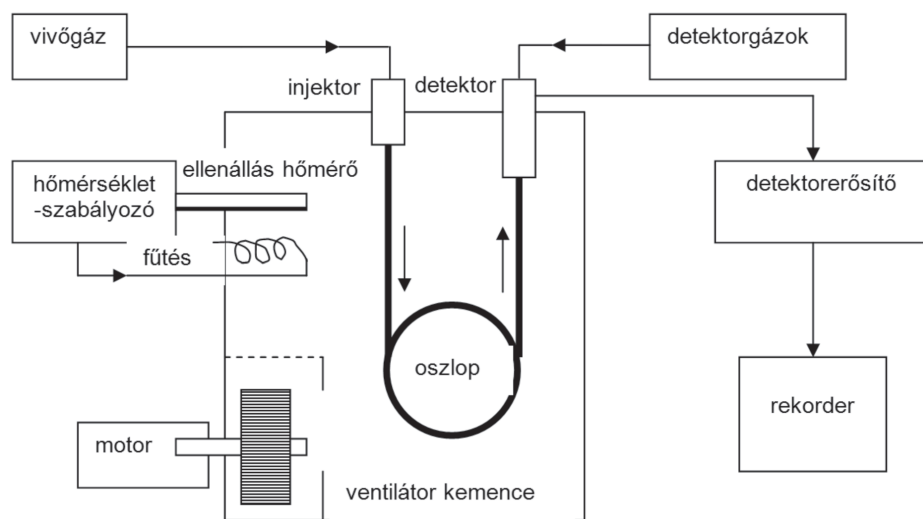
ahol: S = savszám, az 1 g zsír közömbösítéséhez szükséges KOH mennyisége (mg),
 a = a fogyott etil-alkoholos 0,1 M KOH mérőoldat (cm³),
 Z_s = az 1 cm³ petroléteres zsíroltatban lévő zsír mennyisége (g),
 5,611 = az 1 cm³ 0,1 M-os alkoholos KOH mérőoldatban lévő KOH tömege (mg).

A peroxidszámot és a savszámot két párhuzamos mérés középértékeként, egész számban adjuk meg.

3.3.2.3. A zsír zsírsavösszetételének meghatározása gázkromatográfiásan

3.3.2.3.1. A gázkromatográfia elmélete

A gázkromatográfia a kromatográfiás módszerek közül egy olyan analitikai eljárás, mely összetett elegyek komponensekre történő szétválasztását teszi lehetővé. A gázkromatográfia esetében a mozgó fázis gáz vagy gőz állapotban van jelen, az álló fázis pedig folyadék (kémiaiilag inaktív hordozóra felvitt polimerek, zsírok, szilikonolajok) vagy szilárd anyag (aktív szén granulátum, szilikagél, alumínium-oxid). A gáz-folyadék kromatográfia esetén a folyadékban való oldékonyság különbsége választja el az elegy alkotórészeit. A gáz-szilárd kromatográfia esetén az elválasztás alapja az álló fázis felületén történő adszorpció különbsége. A gázkromatográfia rendkívül jól használható illó vagy illékonyra tehető vegyületek analízisére, valamint alkalmas az optikai izomerek szétválasztására is.



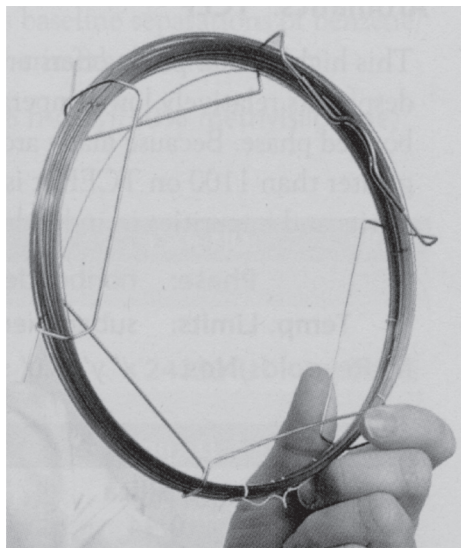
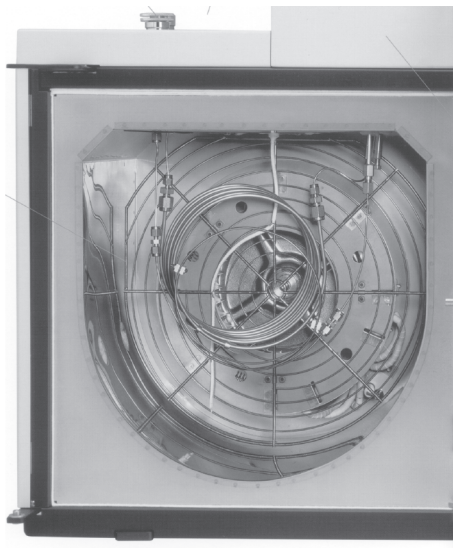
57. ábra. A gázkromatográf elvi felépítése

Összefoglalva tehát, a gázkromatográfia lényegében azon alapul, hogy **a különféle illékony anyagok molekulái adott hőmérsékleten, adott gáznyomás esetén különböző ideig tartózkodnak a szilárd vagy folyékony adszorbens felületén, azaz a molekulák szerkezetüktől függően különböző időtartam után deszorbeálódnak.** Ha egy adszorbenssel töltött kromatográfiás oszlopon gázelegyet áramoltatunk, akkor **az oszlopról először a leggyengébben adszorbeáló komponens lép ki, majd ezt követi a növekvő erősségű adszorpció sorrendjében a többi komponens.** Az egyes alkotórészek különböző ideig tartózkodnak a kromatográfiás oszlopon. A gázelegy áramlásának kezdetétől számított idő, amely alatt az egyes komponensek az oszlopot elhagyják, a **retenciós idő**, amely adott kromatográfiás rendszerben jellemző az egyes komponensekre.

A gázkromatográfiához (57., 58. ábra) szükséges eszközök mind a gáz–szilárd, mind a gáz–folyékony rendszerű eljárásokban azonosak: vivőgáz rendszer, mintaadagoló berendezés, kromatografáló oszlop vagy kolonna, termosztát, érzékelő berendezés vagy detektor és regisztráló berendezés, amelyet újabban a komputer és a szoftverek helyettesítenek.

A gázkromatográfiában csak olyan vivőgáz használható, amely sem a vizsgálandó anyaggal, sem az oszlop töltetével nem lép kémiai kölcsönhatásba. Leggyakrabban vivőgázként nitrogént, hidrogént, héliumot, argont, szén-dioxidot, ritkán levegőt vagy oxigént használnak. A kromatográfiás készülékeket gázpalackból látják el vivőgázzal, amelyet még tisztítani vagy szárítani szükséges. A gázkromatográfiás készülékbe a vivőgáz belépése után a mintaadagoló berendezés segítségével juttatjuk be a mintát. A vizsgálandó anyagot általában

folyadék halmazállapotban tápláljuk a készülékbe, de lehetséges a gáz, sőt a szilárd halmazállapotba történő bejuttatás is. A kolonnában a mintának már légneműnek kell lenni, ezért folyékony vagy szilárd anyag vizsgálatakor az adagoló és az oszlop közé előmelegítőt kell beiktatni, amellyel a minta elpárolgatható. Folyékony minták adagolására különleges fecskendőket szerkesztettek, amelyek hozzájuk tartozó tűvel egy szilikongumi réteget szűrnak át, így a vizsgált anyagot a gázkromatográf kellően felmelegített adagolóterébe lehet fecskendezni. A készülékhez töltött és kapilláris vagy más néven üres kolonnák csatlakoztathatók. A **töltött kolonnák** készülhetnek üvegből, alumíniumból, rézből, valamint saválló acélból. Átmérőjük 2–4 mm, hosszuk 1–6 m között változik. A hosszabb oszlopokat csak spirál alakban helyezhetjük el, mert másképp nem férnének el a termosztátban. A **kapilláris kolonnák** anyaga az előzőekben ismertetettekben túl lehet még műanyag is. A kapilláris csövek belső felületét különböző módszerekkel növelik azért, hogy minél több folyadékot lehessen arra felvinni. Belső átmérőjük 0,1–1 mm, hosszuk 10 és 100 m között változik, de speciális analitikai célokra használhatunk több száz méteres kapilláris kolonnákat is. A kapilláris kolonnát orsóra vagy egyéb tartóra tekerik fel, ami lehetőséget ad a ki- és bevezetés kialakítására is. A kromatografáló oszlop töltete attól függően, hogy adszorpciós vagy megoszlási kromatografálást végzünk, más és más lehet. Adszorpciós gázkromatográfiában a töltet felületaktív, kémiaiilag indifferent, nagy fajlagos felületű, poláros vagy apoláros szemcsés anyag. A megoszlási gázkromatográfiánál a folyadéktöltetet a hordozóanyag felületére vagy a kapilláris cső falára viszik fel.



58. ábra. Egy gázkromatográf oszloptere és egy kapilláris oszlop

A nedvesítő anyaggal szemben követelmény, hogy a kromatografálás hőmérsékletén folyékony, kémiaiilag közömbös legyen, és tartósan maradjon meg a hordozó felületén, illékonyága lehetőleg minél kisebb, oldékonysága minél nagyobb legyen. Nagyon jól megfelelnek erre a célra a különböző szilikonolajok.

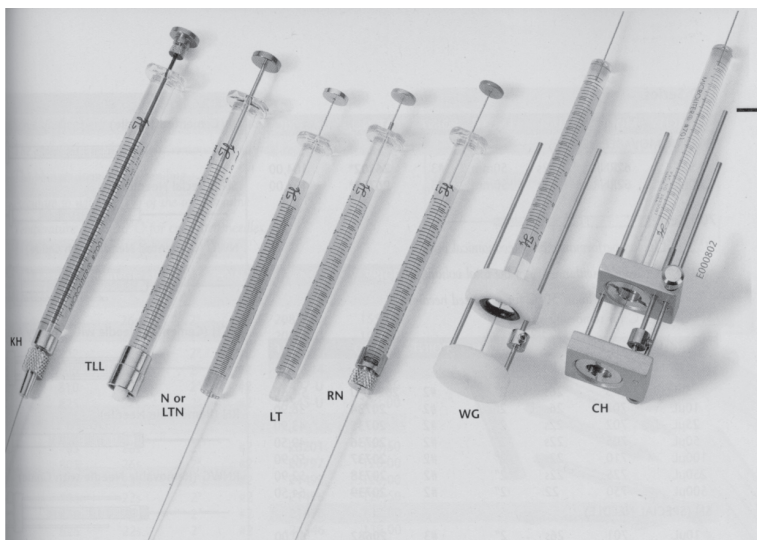
A szétválasztani kívánt komponensek tulajdonságaitól és a kolonna töltétől függően a rendszert szobahőmérséklettől 400 °C-ig temperálhatjuk. Mivel a kromatográfiás elválasztást a hőmérséklet jelentős mértékben befolyásolja, a kolonna hőmérséklete csak szűk határok között ingadozhat. A mai modern készülékeknél a termosztát fűtése is megoldható, melynek során a termosztát hőmérséklete 0,1–50 °C/perc értékkel is változtatható.

A kolonnáról távozó komponensek folytonos, gyors és érzékeny észlelésére szolgálnak a különböző **detektorok**. A detektor a kilépő gázáram valamilyen fizikai vagy kémiai tulajdonságának megváltozását érzékeli a komponens megjelenésekor. E változás erősítőn keresztül észlelhető, regisztrálható és értékelhető. A regisztrált jelek összességét hívjuk **kromatogramnak**. A sok kifejlesztett gázkromatográfiás detektor közül legfontosabbak a **hővezetőképesség-mérő detektor**, a **lángionizációs detektor**, az **elektronbefogásos detektor** és a **lángfotometriás detektor**. A lángionizációs detektor tulajdonképpen egy hidrogénégő, amelyben a láng két elektród között alakul ki, amelyekre 100–300 V feszültséget adunk. A hidrogénláng 2000–2200 °C hőmérsékletén a hidrogén is kismértékben ionizálódik, ami állandó alapáramot biztosít az elektródák között. Ha a kolonnáról szerves anyag jut a detektorba, abból a hidrogénlángban elégye ionok keletkeznek. Ennek következtében a gáz vezetőképessége, s ennek megfelelően az ionáram jelentősen megnő. A lángot határoló két elektróda között keletkező ionáram a megfelelő erősítés után regisztrálható.

A detektor jelét egy műszer rögzíti, amelynek során megkapjuk az elemzés eredményét, a kromatogramot. Regisztráló műszerként általában vonalíró elektronikus potenciométert használunk. Integrátorok segítségével mérni lehet a csúcsok alatti területet, a csúcsok retenciós idejét, segítségükkel teljesen automatizált elemzés valósítható meg. Újabb készülékeknél a gázkromatográf működését komputerbe táplált szoftverek segítségével teljes körűen ellenőrizhetjük. A kromatogramok regisztrálására és értékelésére ma már kizárólag elektronikus integrátorokat vagy számítógépet használunk, amelyek segítségével teljes mértékben kiküszöbölhető a fárasztó és időigényes kézi értékelés.

A gázkromatográfiás módszereket ma már az élelmiszer-analízis sok területén alkalmazzák. Így többek között gázkromatográfiával határozzák meg az antioxiidánsokat, a tartósítószereket, a szermaradványokat, az íz- és aromaanyagokat, valamint az illó- vagy illóvá tehető komponenseket (alkoholok, aldehidek, zsírsavak, észterek), valamint újabban használható aminosav-meghatározásra is az aminosavak észterszármazékainak analízise során. A gázkromatográf nehezen illó, illó származékká nem alakítható és hőlabilis anyagok (szénhidrátok, egyes vitaminok) vizsgálatára nem alkalmas. Ezen utóbbi komponensek analízisét nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával lehet elvégezni.

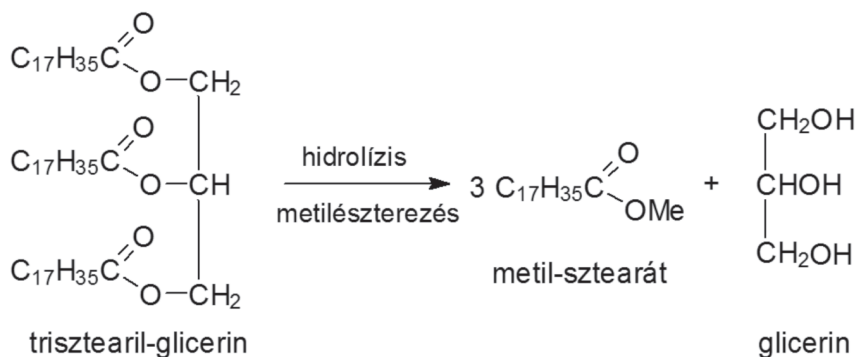
Összefoglalásul a gázkromatográfiás analízis menete a következőképpen írható le. Az analizálni kívánt illó komponenseket megfelelő előkészítés, illetve szár-mazékképzés után a mintaadagoló mikrofecskendő (59. ábra) segítségével a kolonnatér elejére juttatjuk be, $0,5\text{--}2\ \mu\text{l}$ térfogatban. A magas hőmérséklet hatására a komponensek pillanatszerűen elillannak, és a gőzöket a vivőgáz (nitrogén, hidrogén, hélium vagy argon) viszi magával. A gőz komponensei az állófázisban oldódnak, de az érkező gázrészecskék hatására egy részük kilép a gázfázisba, előrehalad és ismét oldódik a folyadékban. Ez folyamatosan zajlik a kolonna egész hosszában, aminek eredményeként a vizsgált komponensek lemaradnak a gázfázishoz képest. Ez a lemaradás vagy retenció a különböző anyagoknál az eltérő oldhatóság miatt más és más, emiatt a különböző komponensek a kolonnán eltérő sebességgel haladnak végig, és annak végén külön-külön jelennek meg. **A minta injektálásától a komponensnek a kolonnából való kilépéséig eltelt idő a retenciós idő**, amely adott kolonnánál, hőmérsékleten és vivőgázsebességnél nem változik, így a komponens azonosítására felhasználható. A kolonnából kilépő komponenseket a detektor érzékeli, amely az illósavak és a zsírsavak meghatározásakor lángionizációs elven működik. A szerves anyagok elégetése során keletkező szén- és hidrogéntartalmú ionok hirtelen nagy áramnövekedést okoznak, amit regisztrálókészülékkel vagy komputerrel folyamatosan mérünk, így áramintenzitás-idő görbét kapunk, amelyet kromatogramnak nevezünk. A kromatogramok értékelése történhet kézzel, de ma már integrátorral, illetve komputerrel végzett értékelést alkalmazunk. A kromatogramon a csúcs helye az illető anyag minőségére, a csúcs nagysága (csúcs alatti terület) pedig az illető anyag mennyiségére jellemző tulajdonság.



59. ábra. Mikropipetták a gázkromatográfba történő injektáláshoz

3.3.2.3.2. A napraforgóolaj és a disznózsír zsírsavösszetételének meghatározása

Az ismertetésre kerülő módszer alkalmas a napraforgóolaj, valamint a disznózsír és az egyéb növényi és állati zsiradékok zsírsavösszetételének meghatározására. Gázkromatográfiás módszerrel elsősorban azok a komponensek vizsgálhatók, amelyek illékonyak vagy 300 °C-ig illékonyá tehetők. A triacil-glicerinek ennek a követelménynek nagy molekulatömegük miatt nem felelnek meg, és alkalmatlanok erre a hidrogénhíd-kötések és az ennek következtében létrejött molekula-asszociátumok miatt a szabad, hosszú láncú zsírsavak is. Ezekből, valamint a triacil-glicerinek észterkötésének hidrolízise után szabaddá váló zsírsavakból zsírsav-metilésztereket szintetizálunk, majd a kapott vegyületet vizsgáljuk gázkromatográfiásan. A hidrolízis, illetve az észterezés folyamatait a 60. ábra mutatja.



60. ábra. A triglicerid hidrolízisének, illetve észterezésének folyamata

A meghatározás során 0,2 g napraforgóolajat vagy disznózsírt feloldunk 2 cm³ n-heptánban, és víztelenítés céljából kevés kiizzított nátrium-szulfátot adunk hozzá. A víztelenített heptános oldatból 0,5 cm³-t egy fiolába pipettázunk, és hozzáadunk 0,5 cm³ nátrium-metilát reagenst, majd 60 °C-on 1 órán át melegítjük, 10 percenként összerázzuk. Ezt követően hozzáadunk 1 cm³ n-heptánt és 1 cm³ desztillált vizet, majd 1–2 percig rázzuk. A reagens feleslegének eltávolítása után a felső szerves fázisból injektálunk a gázkromatográfba. A zsírsav-metilészterek cianopropil állófázisú kapilláris oszloppal elválaszthatók, meghatározásukra lángionizációs detektor használható (61. ábra). A kapott kromatográfias csúcsok alatti területek a zsírsav-metilészterek mennyiségével arányosak. Az eredményeket ennek megfelelően a zsírsav-metilészterek relatív tömegszázalékában adjuk meg:

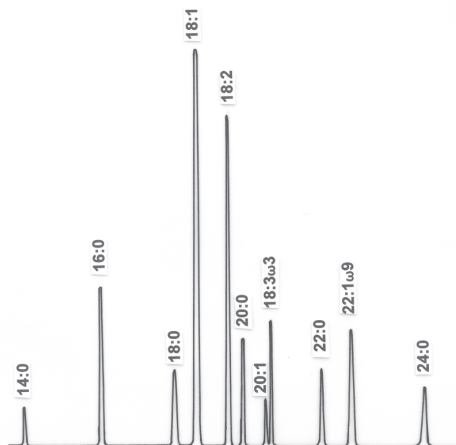
$$\text{Rel\%} = (T_{\text{zsírsav}} / \Sigma T_{\text{zsírsav}}) \cdot 100,$$

ahol: Rel% = a zsírsav-metilészter relatív mennyisége,

$T_{\text{zsírsav}}$ = a zsírsav-metilészter kromatográfias csúcsa alatti terület,

$\Sigma T_{\text{zsírsav}}$ = a zsírsav-metilészterek kromatográfiás csúcsai alatti területek összege.

Azonos mintából, két párhuzamos mérés közötti eltérés az eredmény 5%-a.



61. ábra. A telített és telítetlen zsírsavak standard kromatogramja (A csúcsok mellett a szénatomszám, valamint a telítetlen kötések száma és helye látható.)

3.3.2.4. Válogatott fejezetek

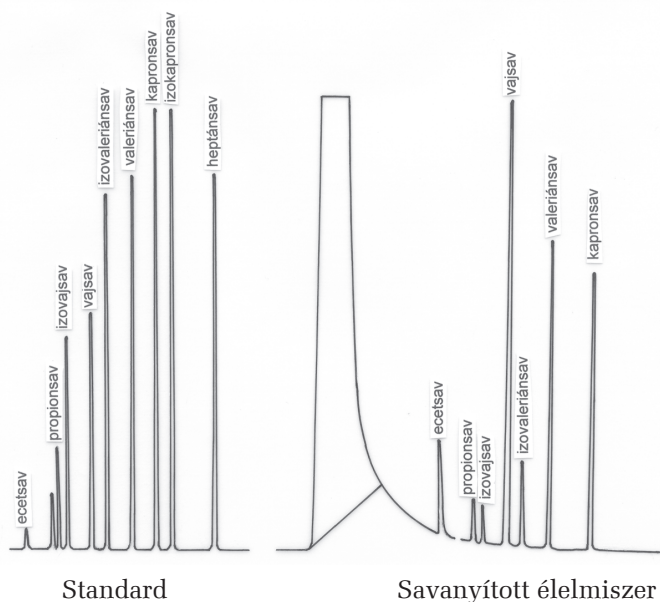
3.3.2.4.1. Az illósavak meghatározása gázkromatográfián

Illósavaknak hívjuk a 2–6 szénatomszámú monokarbonsavakat (ecetsav, propionsav, vajsav, izo-vajsav, valeriánsav, izo-valeriánsav, kapronsav és izo-kapronsav). Ezek az „illósavak” vizes oldatukból melegítéssel könnyen elillannak, tehát kidesztillálhatók. Illékonyságuknak köszönhetően szaguk is intenzív; az ecetsavé kis koncentrációban kellemes, de a többié kellemetlen. Gyakorlati szempontból az erjesztett élelmiszerek illósavtartalmának a meghatározása a legjelentősebb. Az erjesztéssel történő tartósítás során a cukortartalom anaerob bomlás következtében tejsavvá alakul. A folyamattal párhuzamosan végbemenő erjedések során ecetsav, propionsav, vajsav, valamint a fehérjebomlás következtében nagyobb molekulájú illózsírsavak is előfordulhatnak az élelmiszerekben. Az erjesztéssel készített táplálékokban 1–1,5% körüli tejsav-koncentráció kívánatos; a propionsav jelenléte nem káros, sőt hozzájárul az élelmiszer tartósításához. A vajsav jelenléte önmagában nem káros, de ártalmas folyamatokra, illetve rosszul végrehajtott erjesztésre utal, és rontja az organoleptikus tulajdonságokat. Izovajsav, illetve a nagyobb molekulájú illózsírsavak az aminosavbomlás eredményeként jelennek meg.

Az illózsírsavak meghatározását korábban frakcionált desztillálással, újabban viszont gázkromatográfiás eljárással határozzák meg. Az első eljárás szerint a különféle savakat a vizes oldatból kidesztillálták, szedőkben forráspont alapján elkülönítve felfogták, és mennyiségüket lúgos titrálással határozták meg. A desztillálás során a különböző savak nem váltak el tökéletesen egymástól, ezért ezzel a módszerrel csak az ecetsav-, a propionsav- és a vajsavtartalmat vizsgálták, a többi illósvavat pedig figyelmen kívül hagyták.

Napjainkban az illózsírsavak meghatározása gázkromatográfiás módszerrel történik. Ennek első lépésében 100 g erjesztéssel tartósított élelmiszer mérünk egy 1000 cm³-es mérőlombikba, ráöntünk 900 cm³ desztillált vizet, 1 napot állni hagyjuk, időnként összerázzuk. A szűrletből 4 cm³-t centrifugacsőbe mérünk, hozzáadunk 0,2 cm³ foszforsavat és 8000 g-n 10 percig centrifugáljuk. A felülúszót leöntjük, és ebből injektálunk 1 μ l-t a gázkromatográfba. Az illózsírsavak analízise polietilén-glikol állófázisú kapilláris oszloppal történik lángionizációs detektálással.

Minden elemzés előtt általában naponta injektálunk standardoldatot, amely az összes meghatározni kívánt komponenst ismert koncentrációban tartalmazza. Megállapítjuk a retenciós időket, meghatározzuk a koncentráció számításához szükséges faktorokat. A hitelesítő kromatogram elkészülte után injektálunk a vizes kivonatból, az integrátor vagy a komputer segítségével megállapítjuk, hogy mely savak találhatók benne, és a hitelesítő kromatogramhoz történő hasonlításal kiszámítjuk azok koncentrációját (62. ábra).



62. ábra. Az illózsírsavak meghatározása gázkromatográfiával

3.3.2.4.2. F₂-toxin meghatározása gázkromatográfiával

A vizsgálati mintát etil-acetáttal Soxhlet-készülékkel extraháljuk, a kapott extraktumot hexán-acetonitril, majd kloroform-lúg, folyadék-folyadék extrakcióval tisztítjuk. A tisztított kivonatból szilil-származékképzés után töltetes gázkromatográfiás elválasztással (hőmérséklet-programozás mellett) lángionizációs detektorral határozzuk meg az F₂-toxin-tartalmat.

A mérés kivitelezése során a lisztfinomságúra őrlött mintából 20 g-ot Soxhlet-készülékben 8 órán át extrahálunk. Az extraktumot rotációs gyorsbepárlóval (63. ábra) szárazra pároljuk, a maradékot 50 cm³ hexánban feloldjuk, majd 25–50 cm³ acetonitrillel kétszer kirázzuk. Az acetonitriles fázisokat bepároljuk, majd a maradékot 25 cm³ kloroformban vesszük fel. Ezt 2 x 10 cm³ 1 térfogatnyi 0,1 mol/dm³ sósavoldattal tompított 10 térfogatnyi 1 mol/dm³ NaOH-oldattal óvatosan kirázzuk. Az egyesített lúgos fázisokat 0,67 mol/dm³ foszforsavoldat és 0,1 mol/dm³ NaOH-oldat felhasználásával pH=9,5-re állítjuk be, majd 3 x 15 cm³ kloroformmal kirázzuk, az egyesített kloroformos fázisokat vízmentesítés után bepároljuk. A maradékot acetonban feloldjuk és a mintát nitrogénáramban, szobahőmérsékleten bepároljuk, ezt követően a maradékot 200 µl acetonban vesszük fel. Ebből 100 µl-t használunk a gázkromatográfiás analízishez. Ezt a mennyiséget nitrogénáramban ismételtelen bepároljuk, majd 30 percen keresztül 50 µl szililező reagenssel szililezzük. Az így kapott mintából 1–3 µl-t injektálunk a gázkromatográfba. Az analízishez 0,25–0,50 µg/µl koncentrációjú standardoldatot használunk fel szintén szililezett formában.



63. ábra. Rotációs gyorsbepárlók a különböző frakciók kíméletes koncentrálására

A gázkromatográfiás elemzés körülményei az alábbiak:

– kolonna: 2 mm belső átmérő, 1 m hosszú üveg 3% OV-17 töltettel,

– hőmérséklet $T_i = 275\text{ °C}$, $T_D = 305\text{ °C}$, $T_K =$ hőmérsékletprogram 150 °C/ perc, 8 C/perc emeléssel 260 °C -ig, 3 perc hőmérséklettartás,

–nitrogénáramlássebesség: $17,5\text{ cm}^3/\text{perc}$, hidrogénáramlássebesség: $30,5\text{ cm}^3/\text{perc}$, levegőáramlási sebesség = $300\text{ cm}^3/\text{perc}$.

Ilyen kromatográfiás körülmények között a zearalenon szililezett származéka 16 perces retenciós idővel detektálható.

3.3.2.4.3. Antioxidánsok (BHT) meghatározása

A butil-hidroxi-toluol (BHT) alacsony forráspontja miatt könnyen gázállapotúvá alakítható, ezért gázkromatográfiás módszerrel meghatározható. Az eljárás során az antioxidáns-tartalmú vizsgálandó anyagból, elsősorban zsírból, margarinból, olajból oldatot készítünk, amelyet közvetlenül injektálunk a gázkromatográfba. A gázkromatográfiás elválasztás relatíve magas hőmérsékletén ($200\text{--}300\text{ °C}$) mind az oldat, mind az oldott anyagok gázállapotúvá válnak, és megfelelően megválasztott gázkromatográfiás oszlopon szétválaszthatók.

A vizsgálati eljárás során a disznózsírból, margarinból vagy étolajból 100 mg vizsgálati anyagot oldunk 10 cm^3 hexánban, és az így elkészített oldatból $1\text{ }\mu\text{l}$ -t injektálunk a gázkromatográfba. A gázkromatográf injektorának hőmérséklete 250 °C , a vivőgáz hélium, az injektorban a nyomás 180 kPa , a kolonna 10 m hosszú és $0,25\text{ mm}$ átmérőjű kvarckapilláris szilikonolaj töltettel, a kolonnatér hőmérséklete 220 °C , detektorként pedig ITD-800 tömegspektrométert használunk 220-as tömegszámú üzemmódra beállítva 220 °C -on. A BHT csúcsának beazonosítása után az eredményt a következők szerint számítjuk ki, felhasználva azt, hogy a mérések során a BHT mennyiségével arányos területű kromatográfiás csúcsot kapunk. A BHT-tartalmat mg/kg -ban adjuk meg a következő képlet szerint:

$$C_{\text{BHT}} = \frac{T_{\text{minta}} \cdot C_{\text{St}} \cdot 10}{T_{\text{standard}} \cdot m},$$

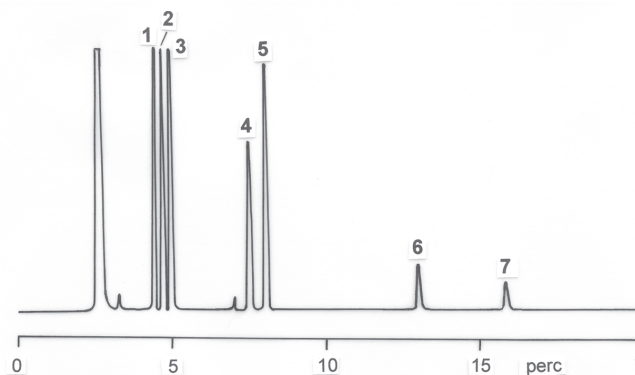
ahol: C_{BHT} = a minta BHT-tartalma (mg/kg),
 C_{St} = a standardoldat BHT-tartalma (mg/cm^3),
 T_{minta} = a mintából származó BHT csúcs területe,
 T_{standard} = a standardból származó BHT csúcs területe,
 m = a bemért minta mennyisége (kg).

Két párhuzamos mérés között a megengedett legnagyobb eltérés az eredmény 5% -a lehet.

A különféle antioxidánsokat a megfelelő kromatográfiás körülmények betartásával egy lépésben is szét lehet választani és meg lehet határozni. A 64. ábrán látható szétválasztás különféle antioxidánsok meghatározására irányult. A kromatogramon az első csúcs a butil-hidroxi-anizol, a második csúcs a butil-hidroxi-toluol, az utolsó csúcs pedig a propil-gallát mennyiségét mutatja. A 3–6

csúcsok különféle antioxidánsokhoz tartoznak. A gázkromatográfiás elválasztás körülményei a következők voltak (mindegyik antioxidáns $200 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ koncentrációjú oldatából $2 \mu\text{l}$ -t tápláltunk be a gázkromatográfba):

30 m x 0,25 mm SAC-5 oszlop,
200 °C-os hőmérséklet,
 $30 \text{ cm}^3/\text{sec}$ áramlási sebességű héliumgáz,
lángionizációs detektor 200 °C-on.

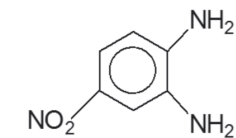


(1. BHA, 2. BHT, 3. TBHQ, 4. Etoxiquin, 5. Ionox 100, 6. THBP, 7. Propil-gallát)

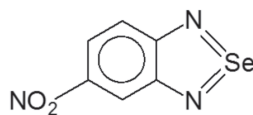
64. ábra. A különféle típusú antioxidánsok szétválasztása és meghatározása gázkromatográfiával

3.3.2.4.4. Szeléntartalom meghatározása biológiai mintákból gázkromatográfiás eljárással

A módszer alkalmas vér, vérszérum, hús, tej, tejtermékek szeléntartalmának meghatározására. A szelén önmagában nem alkalmas a gázkromatográfiás meghatározásra, mert 300 °C -ig nem párologtatható el, ezért olyan szelénszármazékot kell képezni, amely megfelelően illékony, így alkalmas a gázkromatográfiás vizsgálatra. Ilyen alkalmas anyag lehet a piazzselenol, amely a vizsgálati minta roncsolása után szabaddá vált négyvegyértékű szelén és egy alkalmas származékképző reagens reakciójával állítható elő. Ez az illékony vegyület az aromás 4-nitro-orto-fenilén-diamin és a szelén reakciója során keletkezik. A származékképző reagens és a szelénnel kapott származék képlete a következő:



4-nitro-orto-fenilén-diamin



4-nitro-piazzselenol

A 4-nitro-piazzselenol megfelelő körülmények között a szennyező anyagoktól jól elkülöníthető és mennyiségileg jól meghatározható.

A vizsgálati eljárás során a mintát először roncsolni kell, amelyet követ a származékképzés és folytatódik a gázkromatográfiás meghatározással. A roncsolás során 1 g alacsony nedvességtartalmú élelmiszerhez vagy 10 g tejhez, vérhez 4 g $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ -t és 10 cm³ tömény salétromsavat adunk, és egy éjszakán át állni hagyjuk. Ezt követően a roncsolást melegítéssel fejezzük be, majd a szárazra párolt anyagot egy éjszakára 500 °C-os izzítókemencébe tesszük. Az izzítás utáni maradékhoz 10 cm³ 6 mólos sósavoldatot adunk, majd szárítószekrényben 30 percig 95–100 °C-on melegítjük. Lehűlés után 25 cm³-es mérőlombikba töltjük, hozzáadunk 4 cm³ 7,5 mólos nátrium-hidroxid-oldatot, majd 25 cm³-re töltjük fel desztillált vízzel. Ebből a törzsoldatból 2,5 cm³-t egy fiolába mérünk, hozzáadunk 0,25 cm³ 4-nitro-orto-fenilén-diamin (NPD) reagensoldatot és 0,5 cm³ toluolt. Egy percig intenzíven rázzuk, majd a toluolos fázisból 2 µl-t injektálunk a gázkromatográfiába. Az elválasztást 30 m hosszú, 0,75 mm belső átmérőjű üvegkapilláris kolonnán SPB-35 megosztó fázissal végezzük elektronbefogásos (ECD) detektorral. Direkt injektálást végzünk 230 °C-os hőmérsékleten. A kolonnatér hőmérséklete 170 °C, a detektor hőmérséklete pedig 300 °C. A mennyiségi meghatározáshoz ismert koncentrációjú szelénoldattal elvégezzük az előzőekben ismertetett vizsgálati eljárást. Az ismert koncentrációjú szelénoldattal kalibráljuk a készüléket, és a szelén mennyiségének meghatározása során a minta és a standard anyag kromatográfiás csúcsának területét viszonyítjuk egymáshoz. A számolást a következő képlet alapján végezzük:

$$\text{Szelén} = \frac{T_{\text{minta}}}{T_{\text{standard}}}$$

ahol: Szelén = a minta szeléntartalma µg/dm³ egységben,

T_{minta} = a minta szeléntartalmából adódó kromatográfiás csúcs területe,

T_{standard} = a standardból származó szelén kromatográfiás csúcsának területe.

Két párhuzamos mérés között a megengedett legnagyobb eltérés az eredmény 5%-a.

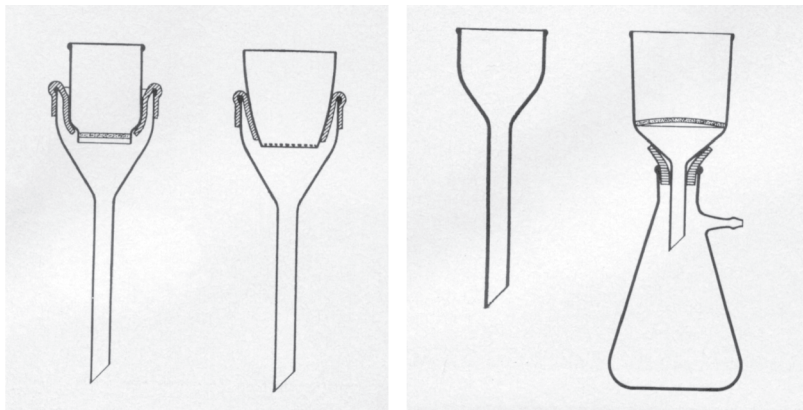
3.3.3. A nyersrost és a rostfrakciók meghatározása

3.3.3.1. A nyersrosttartalom meghatározása klasszikus módszerrel

A nyersrost fogalomkörébe eltérő kémiai összetételű és különböző kémiai viselkedésű, kizárólag növényekben található anyagok tartoznak. Az eltérő kémiai jellegből adódóan nehéz olyan vizsgálati módszert találni, amely megfelelné rutinvizsgálatok céljaira is. A ma használatos módszer szerint a mintát 30 percig 1,25%-os kénsavban, majd a kénsav eltávolítása és desztillált vizes mosás

után 1,25%-os kálium-hidroxid-oldatban fél óráig főzzük, amelynek során a fehérjék, az oldható szénhidrátok, a zsírok, a szerves savak és az ásványi anyagok egy része oldatba megy, a szűrőn pedig visszamarad a nyersrost, amelynek szárazanyag-tartalmából még le kell vonni a nyersrost hamutartalmát. A módszer hibái közé tartozik, hogy a főzés során a hemicellulóz 50–80%-a, a cellulóznak és a ligninnek pedig 10–40%-a oldatba megy.

A nyersrosttartalom meghatározása során 2 g megfelelően előkészített élelmiszert 1 mg-os pontossággal bemérünk egy 400 cm³-es főzőpohárba, hozzáadunk 150 cm³ desztillált vizet és 50 cm³ 0,510 mólos kénsavat (a kettő együtt 1,25%-os kénsavoldatot eredményez), szükség szerint néhány csepp habzástgátló anyagot, majd 30 percen keresztül forraljuk, az elpárolgó vizet pedig forró desztillált vízzel a 200 cm³-es jelig pótoljuk. Ezt követően a forrás leállítására 50 cm³ hideg desztillált vizet adunk hozzá, hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletűre, majd a kapott folyadékot tulipántölcséren keresztül molnár selyemszita segítségével leszívátjuk. A maradékot meleg vízzel savmentessé mossuk, majd a szűrőn maradt részeket veszteség nélkül, fecskendőpalack (spriccflakon) segítségével mindig visszajuttatjuk a pohárba. Ezután hozzáadunk 50 cm³ 0,891 mólos kálium-hidroxid-oldatot és desztillált vízzel 200 cm³-re egészítjük ki (az így kapott oldat 1,25%-os), 30 percig forraljuk, miközben az elpárolgó vizet forró desztillált vízzel pótoljuk a 200 cm³-es jelig. A 30 perc letelte után a forrás megállítására hozzáadunk 50 cm³ hideg vizet, hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletűre, és a folyadékot tulipántölcséren keresztül molnár selyemszita segítségével leszívátjuk. A maradékot 150 cm³ meleg vízzel többszöri ismételtetéssel tisztára mossuk, miközben a szűrőn maradt részeket minden esetben veszteség nélkül visszajuttatjuk a pohárba.



65. ábra. Különböző típusú porcelánszűrők a rost szűrésére

A savas, illetve a lúgos forralás után kapott maradékot egy átnedvesített szűrőpapíron keresztül leszűrjük (65. ábra). A hamumentes analitikai szűrőpapírt előzőleg 105 °C-on 1 órán át szárítjuk, majd a bemérőedénnyel együtt 0,2 mg

pontossággal lemérjük (B). A pohárból a savas-lúgos mosással kapott anyagot egy gumírozott végű üvegbot segítségével maradék nélkül a szűrőre mossuk. A víz lecsurgása után a kapott anyagot a rosttartalomtól függően kétszer-háromszor 25 cm³ acetonnal átmoszuk. Az aceton lecsurgása után a szűrőpapírt a bemérőedénybe visszateszük, 5–8 órán keresztül 105 °C-on, fedél nélkül tömegállandóságig szárítjuk. Szárítás után a szárítóedényre a fedelet rárakjuk, exsikkátorban hagyjuk lehűlni, majd 0,2 mg pontossággal lemérjük (A). Az A–B különbség a rosthambut még tartalmazó rost, azaz „a”.

A rosthamu-meghatározáshoz 0,2 mg pontossággal lemérünk egy kiizzított kvarc vagy porcelán tégelyt (D), és belehelyezzük a rostot tartalmazó szűrőpapírt. 550 °C-on három órán keresztül izzítókemencében hamvasztjuk, majd exsikkátorban hagyjuk kihűlni, és 0,2 mg pontossággal lemérjük (C). A C–D különbség a rosthamu, azaz a „b”.

A nyersrosttartalmat az alábbi képlet szerint számítjuk és tömegszázalékban fejezzük ki:

$$\text{Nyersrost\%} = \frac{a - b}{m} \cdot 100,$$

ahol: a = rosthamu-tartalmú nyersrost tömege, azaz A–B, (g),

b = a rosthamu tömege, azaz C–D, (g),

m = a meghatározáshoz bemért minta tömege (g).

A nyersrosttartalom a két, párhuzamos meghatározás eredményéből számított középérték. Azonos mintából két párhuzamos mérés eredménye közötti legnagyobb megengedett eltérés: 10%-nál kisebb nyersrosttartalom esetén 0,3% nyersrost, 10%-nál nagyobb nyersrosttartalom esetén az eredmény 3%-a.

Amennyiben az élelmiszer 10%-nál több zsírt tartalmaz, akkor azt a rostmeghatározás előtt zsírtalanítani kell, és a zsírtalanított anyagból kell rostmeghatározást végezni. Zsírtalanított minta esetében az eredmény kiszámítása és kifejezése a következők szerint történik:

$$\text{Nyersrost\%} = \frac{(a - b) \cdot (100 - zs)}{m_{zs}},$$

ahol: a = a rosthamu-tartalmú nyersrost tömege, azaz A–B, (g),

b = a rosthamu tömege, azaz C–D, (g),

zs = a vizsgált élelmiszerminta zsírtartalma %-ban,

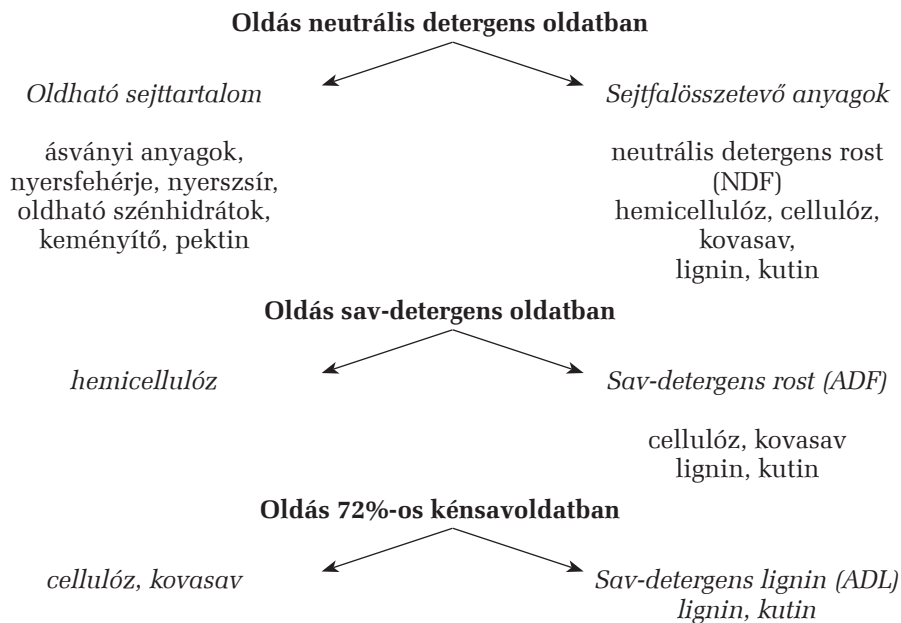
m_{zs} = a nyersrost-meghatározáshoz bemért zsírtalanított minta tömege (g).

3.3.3.2. A rostfrakciók meghatározása Van Soest szerint

A klasszikus rostmeghatározás hibáinak kiküszöbölésére Van Soest egy új módszert dolgozott ki a növények sejtfalát alkotó anyagok és az oldható sejttartalom különválasztására. Eszerint egy 7,0 pH-ra beállított ún. neutrális detergens oldattal (Na-laurilszulfátot, etilén-diamin-tetraecetsavat, dinátrium-hidrogénfosz-

fátot és nátrium-borátot tartalmazó oldat) egy órán át történő főzéssel kioldjuk, a növényi sejtek oldható sejt tartalmát, azaz az ásványi anyagokat, a nyersfehérjét, a nyerszsírt, a cukrokat, a keményítőt és a pektint. A vízzel, majd acetonnal történő többszöri mosás után visszamaradó rész az ún. **neutrális detergens rost** (**Neutral Detergent Fiber, NDF**) tartalmazza a sejt falösszetevőket, azaz a hemicellulózt, a cellulózt, a kovasavat, a lignint és a kutint. Ezt követően a neutrális detergens rost alkotóinak szétválasztása következik, amelynek során először 0,5 M kénsavat és 2% cetil-trimetil-ammónium-bromidot tartalmazó oldattal főzzük a NDF-et, amelynek hatására oldatba megy a hemicellulóz, és a maradék, az ún. **sav-detergens rost** (**Acid Detergent Fiber, ADF**) már csak a cellulózt, a lignint és az inkusztráló anyagokat (kovasav, kutin) tartalmazza.

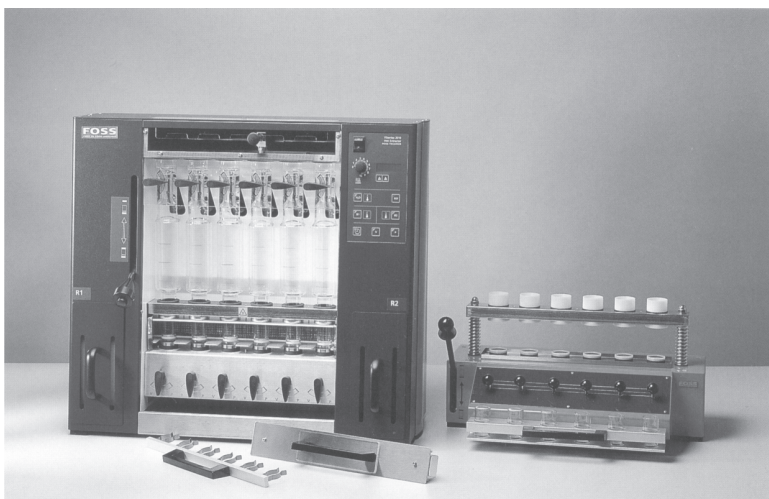
A sav-detergens rost két legfontosabb alkotórészét, a cellulózt és a lignint 72%-os kénsavoldatban történő kezeléssel lehet szétválasztani, amelynek során a cellulóz és a kovasav oldatba megy, a kutin és a lignin pedig visszamarad a **sav-detergens lignin** (**Acid Detergent Lignin, ADL**) frakcióban. A leírt rostfrakció-meghatározási módszert a 66. ábra teszi szemléletessé.



66. ábra. A rostfrakciók meghatározása Van Soest szerint

Ez a módszer az utóbbi időben rendkívül elterjedt, mert leegyszerűsítette az élelmiszerek analízisét. Az oldható sejt tartalom jól tájékoztat az élelmiszer tápláléértékéről, a sav-detergens rostra kapott eredmények pedig jól egyeznek a

hasznosulási kísérletek eredményeivel. A rutinvizsgálatoknál általában megelégszünk az NDF meghatározásával, és csak ritkábban kerül sor az ADF és az ADL analízisére. A rostfrakció-analízist végezhetjük nagy odafigyeléssel manuálisan is, az ismertetett detergens oldatok alkalmazásával, de célszerű az analíziseket valamilyen automatikusan működő műszer (pl. Tecator Fibertec, 67. ábra) segítségével végezni. Ebben az esetben a vizsgálandó mintát egy zsugorított üvegszűrőbe mérjük be, amelyben a neutrális detergens oldattal, a sav-detergens oldattal és a sav-detergens-lignin oldattal is kezelhetjük a mintát. Mindegyik kezelés után az oldatokat a zsugorított üvegrétegen keresztül vízszugárszivattyúval leszívátjuk, aminek során a minta a zsugorított üvegszűrőn marad. A szűrő és a minta szárítása és mérése után alkalmazzuk a következő detergens oldatot, tehát a minta a szűrőt sohasem hagyja el, így a manipulációs veszteség is sokkal kisebb, mint a kézi eljárásnál. Egy készülékkel naponta 18–24 minta rostfrakcióit lehet meghatározni.



67. ábra. Tecator Fibertec rostmeghatározó

3.3.4. A nitrogénmentes kivonható anyagok meghatározása

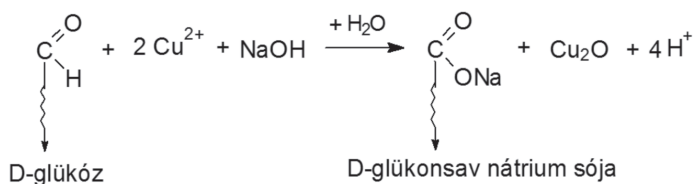
Élelmiszerek analízisének a nitrogénmentes kivonható anyagokat, amely tartalmazza a cukrokat, a keményítőt, az inulint, a pektint, valamint a hemicellulózt és a cellulóz oldható részét, számítással határozzuk meg. Amennyiben az élelmiszer szárazanyag-tartalmából kivonjuk a hamu-, a nyersfehérje-, a nyerszsír- és a nyersrosttartalmat, akkor megkapjuk a nitrogénmentes kivonható anyagok mennyiségét. Ha pontosabb analízisre van szükségünk, akkor a következő vizsgálatokat alkalmazhatjuk a nitrogénmentes kivonható anyagok egyes komponenseinek kimutatására és meghatározására.

3.3.4.1. A cukrok kimutatása és meghatározása

A szénhidrátok és ezen belül a cukrok (mono-, di-, illetve triszacharidok, polihidroxi-aldehidek vagy polihidroxi-ke-tonok, illetve ezek származékai) kémiai sajátosságait az alkoholos hidroxil-, valamint az aldehid-, illetve a ketocsoportok szabják meg. Kimutatásuk és meghatározásuk is a funkciós csoportok kémiai reakciói alapján történik. Ezek közül legjelentősebb a szabad aldehidcsoport kémiai reakciói, amelynek segítségével a redukáló cukrok könnyen kimutathatók és meghatározhatóak.

3.3.4.1.1. Aldózok kimutatása Fehling-reakcióval és ezüsttükör-próbával

A Fehling-reakció során a réz(II)-szulfát oldatból (Fehling I-oldat) és a lúgos kálium-nátrium-tartarát oldatból (Fehling II-oldat) keletkező kék színű komplexből a cukrok vörös színű réz(I)-oxid csapadékot választanak le a következő reakció szerint:

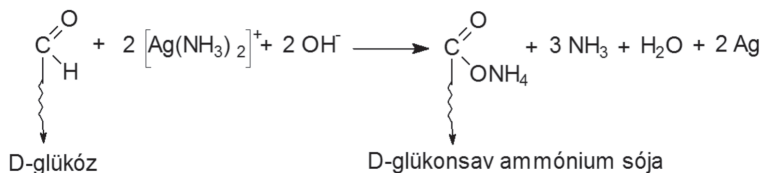


A reakció során a két vegyértékű rézionokat a D-glükóz aldehidcsoportja egy vegyértékű rézionokká redukálja, miközben a glükóz aldehidcsoportja karboxilcsoporttá alakul (oxidálódik), a D-glükózból pedig nátrium-hidroxidos közegben a D-glükonsav nátriumsója keletkezik. A réz(I)-oxid mennyiségének mérésével a glükóz koncentrációja is meghatározható.

A Fehling-reakció kivitelezése során néhány cm³ 1%-os D-glükóz-oldathoz 2 cm³ Fehling I- és 2 cm³ Fehling II-oldatot adunk, majd a kémcső tartalmát forrássig melegítjük. A forralás megkezdésétől számított pár másodpercen belül a vörösbarna rézoxid-csapadék kiválása észlelhető, amely a forralás befejezése után leülepszik a kémcső aljára.

Az ezüsttükör-próba során ammóniás ezüst-nitrát-oldatból a D-glükóz a tökéletesen tiszta zsírmentes kémcső falára fémezüstöt választ ki, amelynek során az ezüst tükröző bevonatot képez. Amennyiben a kémcső nem tökéletesen tiszta, vagy a reakció közben a kémcsövet megrázzuk, az ezüst fekete csapadék formájában válik le, ami a forralás után kiülepszik az oldatból. A reakció során a D-glükóz aldehidcsoportja reagál egy ezüst-amin komplexszel, amelyet ezüst-nitrát-oldatból ammónium-hidroxiddal állítunk elő, amelynek során keletkezett csapadékot ammónium-hidroxid feleslegében oldjuk. A reakció során a D-glükózból D-glükonsav, illetve annak ammóniumsója, az ezüstionból pedig fémezüst keletkezik. A kísérlet kivitelezése során 2–3 cm³ D-glükóz-oldathoz 5 cm³

5%-os ammóniás ezüst-nitrát-oldatot adunk, és az elegyet vízfürdőn óvatosan melegítjük. Szerencsés esetben a kémcső falára ezüstittükör formájában fémezüst válik le, ellenkező esetben fekete csapadékot kapunk. A reakció a következő egyenlet szerint megy végbe:



3.3.4.1.2. Az összes cukortartalom meghatározása

Élelmiszereinkben általában a szacharóz vagy más néven répacukor, ha tejet tartalmazó élelmiszerről van szó, a tejcukor fordul elő nagyobb koncentrációban. E két cukor a diszacharidok csoportjába tartozik, mindkettő képlete $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$. A laktóz a redukáló cukrok, a szacharóz pedig a nem redukáló cukrok közé tartozik, azaz a laktóz adja, a szacharóz nem adja a Fehling-reakciót és az ezüstittükör-próbát. Mindkét diszacharid híg sósavas oldatban melegítve két monoszachariddá, a szacharóz glükózzá és fruktózzá, a laktóz pedig glükózzá és galaktózzá hidrolizálható.

A mennyiségi meghatározás elve tulajdonképpen az előző fejezetben ismertetett Fehling-reakció, amelynek során a Cu^{2+} -ionokból Cu^+ -ionok keletkeznek, a cukor aldehidcsoportjának hatására. A Cu^+ -ionok mennyiségét meghatározva a cukor mennyisége pontosan meghatározható. A vizsgálati eljárás során 20 g mintát mérünk be egy 1000 cm³-es mérőlombikba, hozzáadunk 500 cm³ vizet, és 1 órán át rázógéppben rázatjuk. A cukor meghatározását zavaró anyagok eltávolítására 20-20 cm³ Carrez I- és II-oldatot adunk hozzá. A Carrez I-oldat készítése során 100 cm³-es mérőlombikban desztillált vízben feloldunk 21,9 g cink-acetátot, hozzáadunk 3 cm³ ecetsavat, jelig töltjük és jól összerázzuk. A Carrez II-oldat készítése során egy 100 cm³-es mérőlombikban desztillált vízben feloldunk 10,6 g kálium-hexaciano-ferrát(II)-ot, elegyítjük, jelig töltjük. A Carrez I- és a Carrez II-oldat hozzáadása után 80%-os etanollal jelre töltjük, összerázzuk és leszűrjük. A szűrletből kiveszünk 200 cm³-t, elpárologtatjuk az etanol fő tömegét, a bepárlási maradékot pedig meleg desztillált vízzel átmossuk egy 200 cm³-es mérőlombikba, majd lehűlés után jelre töltjük. Ezt az oldatot használjuk a későbbiekben a redukálás, valamint az inverzió után az összes cukortartalom meghatározásához.

A redukáló cukortartalom meghatározása

Az előzőek szerint előkészített oldatból kipipetázzunk kb. 25 cm³ oldatot egy 300 cm³-es Erlenmeyer-lombikba. A kivett oldat 60 mg-nál több redukáló cukrot ne tartalmazzon. Pipetázzunk 25 cm³ Luff-Schoorl-reagenst az Erlenmeyer-lombikban lévő 25 cm³ vizsgálandó oldathoz. (A Luff-Schoorl-reagenst az

alábbi módon készítjük el: óvatosan keverve 100 g, 50 tömegszázalékos citromsavoldatot 300–350 cm³ nátrium-karbonát-oldathoz töltünk egy 1000 cm³-es mérőlombikba, mely már 143,8 g vízmentes nátrium-karbonátot tartalmaz feloldva. Hozzáadjuk a 100 cm³ desztillált vízben feloldott 25 g réz-szulfátot, összerázzuk, majd desztillált vízzel jelre töltjük, elegyítjük. Egy éjszakán át ülepedni hagyjuk, majd leszűrjük, és ellenőrizzük a pH-ját, amelynek optimális esetben 9,1-nek kell lenni.) A minta és a Luff-Schoorl-reagens elegyéhez adjunk 2 db horzsakövet, és szabad láng felett, rázogatva hozzuk forrásba 2 percen belül. Ezt követően azonnal tegyük az Erlenmeyer-lombikot azbesztes hálóra, helyezzünk a lombikra léghűtőt, és pontosan 10 percg forraljuk, majd azonnal hűtsük le hideg vízzel. A kivált réz(II)-oxidot a következők szerint titráljuk meg: a kihűlt lombikba adjunk 10 cm³ 3%-os kálium-jodid-oldatot, és rázogatás közben óvatosan 25 cm³ 3 mólos kénsavoldatot. Ezután titráljuk 0,1 mólos nátrium-tioszulfát oldattal szalmasárga színig, majd adjunk hozzá 1 cm³ keményítőindikátor-oldatot, és fejezzük be a titrálást. A fenti eljárással párhuzamosan készítsünk egy vakpróbát, ami csak abban különbözik az ismertetett eljárástól, hogy a mintaoldat helyett 25 cm³ desztillált vizet használunk.

Az összes cukortartalom meghatározása

Az összes cukortartalom meghatározása során pipetázzunk a 200 cm³-es mérőlombikban lévő cukoroldatból 50 cm³-t egy 100 cm³-es mérőlombikba, adjunk hozzá néhány csepp metilnarancs-indikátoroldatot, és annyi 4 mólos sósavoldatot, amíg az indikátor színe piros lesz. Ezután adjunk hozzá 15 cm³ 0,1 mólos sósavoldatot, majd tegyük a lombikot intenzív forrásban lévő vízfürdőbe, és tartsuk ott 30 percg. Ezután gyorsan hűtsük le 20 °C-ra, adjunk hozzá 15 cm³ 0,1 mólos nátrium-hidroxid-oldatot, töltsük fel desztillált vízzel és rázzuk össze. Vegyünk ki belőle 25 cm³-t, és végezzük el a cukormeghatározást az előzőekben ismertetett Luff-Schoorl szerint. A redukáló, illetve az összes cukortartalmat a 11. táblázatban lévő adatok alapján számoljuk a következő képlet segítségével. Az eredményt tömegszázalékban fejezzük ki.

$$C = \frac{K(V-F) \cdot f}{m \cdot 10},$$

ahol: K = a táblázatból kikeresett cukortartalom (mg),
 V = a vakpróbára fogyott 0,1 mólos nátrium-tioszulfát térfogata (cm³),
 F = az aliquot mintaoldalra fogyott 0,1 M nátrium-tioszulfát mérőoldat térfogata (cm³),
 f = 0,1 mólos nátrium-tioszulfát mérőoldat faktora,
 m = a titráláskor kipipetázott mintaoldatban lévő minta tömege (g).

A cukortartalom két párhuzamos vizsgálat eredményéből számított szám-tani középérték, amelyet egytizedesre kerekítve adunk meg. A két párhuzamos mérés között megengedett legnagyobb eltérés a számtani középérték 8%-a.

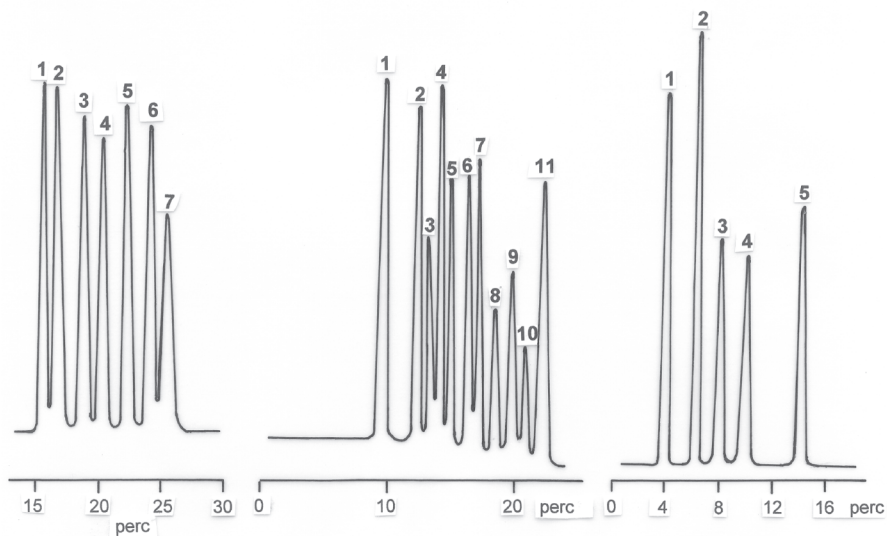
11. táblázat. A Luff-Schoorl-reagenshez tartozó 0,1 mólos nátrium-tioszulfát mérőoldat fogyásának megfelelő glükóz, fruktóz, invertcukor tömege mg-ban (kétpertes melegítés és tízperces forralás esetén)

0,1 mólos $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat térfogata (V-F)f	A glükóz, fruktóz, invertcukor tömege (K)	
cm^3	mg	tömegkülönbség
1	2,4	
2	4,8	2,4
3	7,2	2,4
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,5
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,6
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,7
15	38,5	2,8
16	41,3	2,8
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	2,9
20	53,0	3,0
21	56,0	3,0
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

3.3.4.1.3. Monoszacharidok szétválasztása és meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

A monoszacharidokat és a diszacharidokat különböző folyadékkromatográfiás technikával, elsősorban nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával szét lehet választani, illetve meg lehet határozni. A 68. ábra első kromatogramján látható, hogy az alkalmazott kromatográfiás technikával hét szénhidrát egymástól tökéletesen szétválasztható, és a csúcsok elválása kielégíti a meghatározás követelményeit. Még jobb az elválás a harmadik kromatogramon, ahol csak négy cukor, valamint a borkősav szétválasztása látható. A középső kromatogram egy bonyo-

lultabb feladat megoldására mutat be példát, ahol a különféle cukrok mellett szerves savakat és alkoholokat is elválasztunk egymástól.



1. Szukróz
2. Glükóz
3. Citromsav
4. Fruktóz
5. Borkósav
6. Almasav
7. Glicerín

1. Szukróz
2. Maltóz
3. Glükóz
4. Xilóz
5. Galaktóz
6. Arabinóz
7. Mannóz
8. Ecetsav
10. Metanol
11. Etanol

1. Borkósav
2. Szacharóz
3. Glükóz
4. Fruktóz
5. Szorbit

68. ábra. *Cukrok, savak, alkoholok és cukoralkoholok szétválasztása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával*

A cukrok szétválasztására és meghatározására mindaz érvényes, amiket a korábbi nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztás során már tárgyaltunk. A különbség csupán annyi, hogy eluensként vizet vagy rendkívül híg savanyú oldatot használunk; az átfolyási sebesség 0,4 és 0,6 cm³/perc, a kromatografálási hőmérséklet pedig 30 és 80 °C között változik. A speciális, cukrok szétválasztására és meghatározására kifejlesztett oszlopok mellett szinte minden elválasztásnál és meghatározásnál törésmutató-mérő detektort használunk.

3.3.4.2. A keményítő és meghatározása

3.3.4.2.1. Különböző kísérletek keményítővel

A keményítő a poliszacharidok csoportjába tartozik; glükóz monomerekből $\alpha(1\rightarrow4)$ kötésekkel kapcsolódó poliszacharid. A keményítő tulajdonságainak tárgyalásakor a keményítő oldhatóságával és hidrolízisével, valamint a keményítő és a jód közötti színreakcióval foglalkozunk.

A keményítővel kapcsolatos kísérleteket a keményítőcsiriz készítésével kezdjük. Ennek során 5 g búzakeményítőt 50 cm³ vízben hidegen jól elkeverünk, majd 50 cm³ forró desztillált vizet adunk hozzá, intenzíven összekeverjük, amelynek során pudingszerűen megszilárduló keményítőcsirizt kapunk. A keményítő hideg vízben nem oldódik – ha egy késhegynyi keményítőt 1 cm³-nyi hideg vízzel összerázunk, akkor az egy átlátszatlan szuszpenziót képez, ezért ha ezt az oldatot gázlágon óvatosan melegítjük, akkor 5 percen belül gyengén opalizáló kolloid oldatot kapunk. Az oldat 1 cm³-ét tízszeresére hígítjuk desztillált vízzel, majd az így kapott oldathoz 1–2 csepp kálium-jodidos jódoldatot csepegtetünk. Intenzív sötétkék színeződést tapasztalhatunk, mert a jód és a keményítő kék színű vegyületet alkot egymással. Ezt az ún. jód-keményítő reakciót rendkívüli érzékenysége miatt mind a jód, mind a keményítő kimutatására használják.

A keményítő sem az ezüstitűkőr-, sem a Fehling-reakciót nem adja, mivel szabad aldehidcsoportot nem tartalmaz. A keményítő tömény kénsavval reagáltatva vagy híg savakkal hosszabb ideig forralva hidrolízis közben monoszacharidokká alakul, amely már adja a Fehling-reakciót. Állításunk igazolására két kísérletet is végezhetünk. Az első kísérletben egy 100 cm³-es főzőpohárba pár gramm keményítőt mérünk, majd 5–10 csepp koncentrált kénsavat adunk hozzá. Üvegbottal a kénsavat és a keményítőt egymással elkeverjük, a kapott péphez óvatosan 1–2 cm³ desztillált vizet adunk, majd gázlágon óvatosan 2 percig forraljuk az oldatot. Lehűlés után 1 cm³-t kiveszünk az oldatból, nátrium-hidroxid-oldattal meglúgosítjuk, majd elvégezzük a Fehling-próbát, melynek eredménye pozitív lesz.

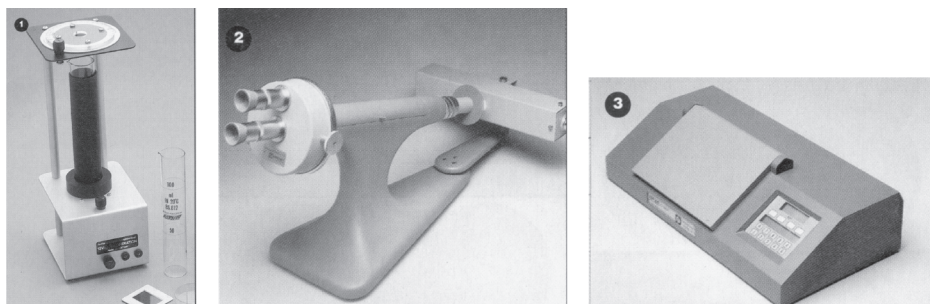
A második kísérletben 10 db kémcsövet helyezünk egy kémcsőtartóba, és mindegyikbe töltünk 10 cm³ 0,1 mólos sósavoldatot. Mindegyik kémcsőhöz hozzáadunk olyan keményítőtartalmú oldatot, amelyet 10 g keményítőcsiriz és 50 cm³ desztillált víz elkeverésével állítottunk elő. A keményítőoldatból töltünk 1 cm³-t mindegyik kémcsőbe, tartalmukat rázzuk jól össze, és helyezzük őket egy forróvizes edénybe. A forrás kezdetétől számítva kétpercenként vegyünk ki egy-egy kémcsövet a forró vízből és jeges vízben azonnal hűtsük le. A tizedik kémcső kivétele után (20 perc) várjuk meg, míg mindegyik kémcső tökéletesen kihűl, tartalmukat felezzük meg, és végezzük el egyik felével a jód-keményítő, a másik felével pedig a Fehling-reakciót. A két percig forró vízben állt kémcső a jód-keményítő reakciót még kiválóan adja, a Fehling-reakció pedig kevés redukáló cukor jelenlétére utal. A 20 percig forró vízben tartott kémcső már nem adja

a jód-keményítő reakciót, viszont intenzív sötétbarna elszíneződést kapunk a Fehling-reakció elvégzése után, ami nagy mennyiségű redukáló cukor jelenlétére utal. Amennyiben az összes kémcsővel elvégezzük a jód-keményítő reakciót, akkor egy olyan színskálát kapunk, amelynek az első tagjai (2, 4 perces melegítés) intenzív kék színt produkálnak, amely színintenzitás az idő függvényében csökken, és a 16–20 percig forró vízben lévő kémcsövek már csak rendkívül halvány színt produkálnak, illetve a színreakciót egyáltalán nem is adják.

3.3.4.2.2. A keményítőtartalom meghatározása

A gyakorlatban leginkább alkalmazott módszer szerint az élelmiszermintát meghatározott ideig híg sósavoldatban főzzük, a fehérjék kicsapása után a tükrös szűrlet optikai forgatóképességét pedig polariméteren mérjük. A kapott forgatási értéket korrigáljuk a 40 térfogat%-os etanolban oldható híg sósavoldattal kezelt komponensek optikai forgatóképességének értékével, majd e korrigált forgatási érték alapján számítjuk ki a keményítőtartalmat. Tájékoztató mérésre elegendő a fehérjék kicsapása után kapott szűrlet optikai forgatóképességének polariméteres mérése is (69. ábra), ez azonban tartalmazza az élelmiszerben jelen lévő egyéb optikailag aktív vegyületek (cukrok, aminosavak) forgatóképességét is.

A tájékoztató vizsgálat szerint a megfelelően előkészített és homogenizált mintából 1 mg-os pontossággal lemérünk 2,5 g-ot, és 100 cm³-es polarizálólombikba helyezük. Hozzáadunk 25 cm³ 0,31 mólos sósavoldatot úgy, hogy a minta teljes mennyisége átnedvesedjen, és a lombik nyakára tapadt mintarészecskék is a lombikba mosódjanak. Ezt követően még hozzáadunk 25 cm³ 0,31 mólos sósavoldatot, majd a lombikokat forrásban lévő vízfürdőbe helyezük, és pontosan 15 percig forraljuk.



69. ábra. Különböző típusú polariméterek a forgatóképesség meghatározására

A vízfürdőből kivéve azonnal 25 cm³ hideg desztillált vizet adunk hozzá, és a lombikot hideg vízzel szobahőmérsékletűre hűtjük. Kis fehérjetartalom esetén hozzáadunk 5 cm³ Carrez I-, majd 5 cm³ Carrez II-oldatot, és ismételtelen alaposan összerázzuk. Nagy fehérjetartalom esetén a Carrez-oldatokat megduplázzuk.

Desztillált vízzel jelig töltjük, és összerázás után szűrjük. Ezt követően mérjük a szűrlet optikai forgatóképességét polariméterrel (α). Ha a leszűrt oldat nem tükörös, ismételjük meg a műveleteket nagyobb mennyiségű Carrez-oldatok használatával. A keményítőtartalmat (K) a következő képlettel számítjuk ki és tömegszázalékban adjuk meg:

$$K = \frac{100 \cdot 100 \cdot \alpha}{[\alpha]_{20}^D \cdot l \cdot m} \cdot f,$$

ahol: α = a minta forgatóképessége (fok),
 $[\alpha]_{20}^D$ = a fajlagos forgatóképesség (fok),
 l = a polarimétercső hossza (dm),
 m = a vizsgálathoz bemért minta tömege (g),
 f = átszámítási faktor, a mérés hullámhosszáról (546 nm), a nátrium D-vonalára (589 nm).

Azonos mintából két párhuzamos meghatározás eredménye között megengedett legnagyobb eltérés 0,5% keményítőtartalom.

3.3.4.3. Válogatott fejezetek

3.3.4.3.1. Cukoripari késztermékek hamutartalmának meghatározása az elektromos vezetőképesség alapján

A kereskedelmi forgalomba kerülő cukrok nagy tisztaságú élelmiszerek, amelyek a cukron kívül minimális mennyiségben csak ásványi anyagokat tartalmaznak. Hazánkban a kristálycukor megengedett maximális hamutartalma 0,044%, a finomított kristálycukoré és a kockacukoré pedig 0,025%. Ilyen kis mennyiségű hamutartalmat a hagyományos módon (izzítás utáni mérlegelés) rendkívül körülményes meghatározni, ezért inkább a desztillált vízben oldott cukor elektromos vezetőképességét mérik, hisz a nagyobb hamutartalom több fémionnal jár együtt, amelynek következtében a nagyobb hamutartalmú cukoroldat elektromos vezetőképessége is nagyobb. A répacukor maga nem vezeti az elektromos áramot, sőt az ionok mozgékonyságának akadályozásával az oldat vezetőképességét még csökkenti is.

A vezetőképesség-mérésnél problémát okoz a hőmérséklet is, ezért a mérőműszer kalibrálását és a minta vezetőképességének mérését mindig azonos hőmérsékleten kell elvégezni, vagy hőmérséklet-korrekciót kell alkalmazni. A hitelesítő és a mintaoldatok készítésénél bidesztillált vizet kell használni, hogy a vízben lévő ionok a mintaoldat vezetőképességét csak csekély mértékben befolyásolják. A jó minőségű bidesztillált víz fajlagos vezetőképessége szobahőmérsékleten $5 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$. A vezetőképességet konduktométerrel mérjük, amelynek lényege, hogy egy harangelektrodból kialakított mérőcellát merítünk a mérendő közegbe, és az ezen létrejövő feszültségesést mérjük. A fajlagos vezetőképességet a $\kappa = C \cdot K$ összefüggés definiálja, ahol C a harangelektrod cellaállandója, ame-

lyet ismert koncentrációjú kálium-klorid-oldat vezetőképességét mérve határozzunk meg, K a műszerskálán leolvasott érték $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ -ben.

A kristálycukor hamutartalma meghatározása során $26 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ koncentrációjú vizes oldatot készítünk, majd megmérjük ennek fajlagos vezetőképességét 20°C -on, valamint ezzel párhuzamosan mérjük az oldatkészítéshez használt víz vezetőképességét is 20°C -on. A %-ban kifejezett hamutartalmat a következő képlet szerint számítjuk ki, és tömegszázalékban adjuk meg:

$$H = 6 \cdot 10^{-4} \cdot C (K - 0,35 \cdot K_v),$$

ahol: K_v = a műszerskáláról leolvasott víz vezetőképessége ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$),
 C = a harangelektrod cellaállandója,
 K = a mérőműszeren leolvasott érték ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$).

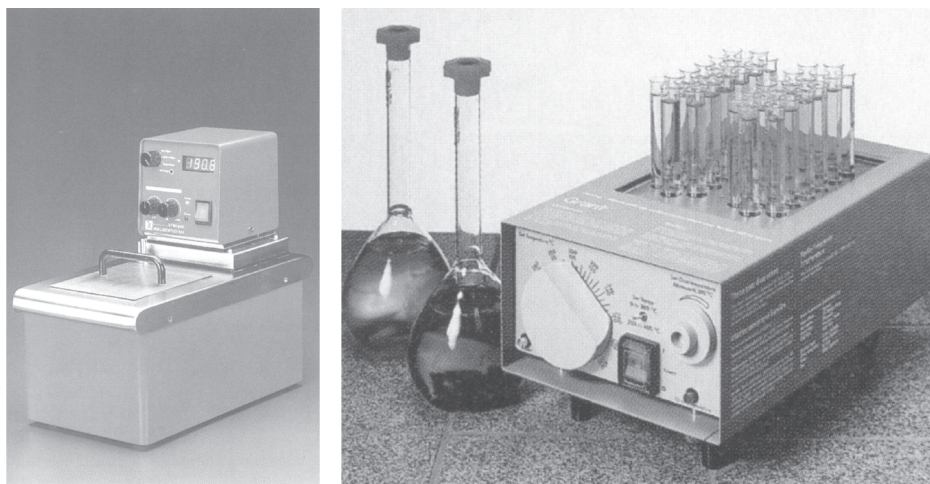
3.3.4.3.2. A melasszal kapcsolatos vizsgálatok

A melasz olyan sötétbarna, jellegzetes szagú, sűrűn folyó folyadék, amely átlagosan 50% cukrot, 12% hamut és mintegy 20% nem cukorszerű szerves anyagot tartalmaz. Szárazanyag-tartalma a technológiától függően 80–84% között van. Takarmányként történő hasznosítását rendkívül nagy energiatartalma és ízletessége indokolja, és a nagy cukortartalom mellett jelentős szereppel bírhat a kérődzők takarmányozásában 1,3–1,8% nemfehérjenitrogén-tartalma is. Ásványianyag-tartalmára jellemző az alacsony nátrium-, kalcium- és foszfortartalom és a rendkívül magas káliumtartalom, ami nagyobb mennyiségű melasz etetése esetén zavart okozhat az állat ásványianyag-háztartásában is. Ragacsos, viszkózus volta miatt a takarmányozási technológiába beilleszteni viszonylag nehéz; ez a tulajdonsága azonban előnyösen kihasználható granulátumok, pelletek készítésénél, hisz a takarmányszemcséket nagyon könnyen összeragasztja. Az említeteken túl jelentős lehet szabadaminosav-tartalma és nagyon sok, a mikroorganizmusok életműködéséhez szükséges biológiailag aktív anyagot (B_1 -, B_6 -vitamin, nikotinsav, folsav, biotin, pantoténsav, inozit) is tartalmaz.

3.3.4.3.2.1. A melasz szárazanyag-tartalmának meghatározása kézi refraktométerrel

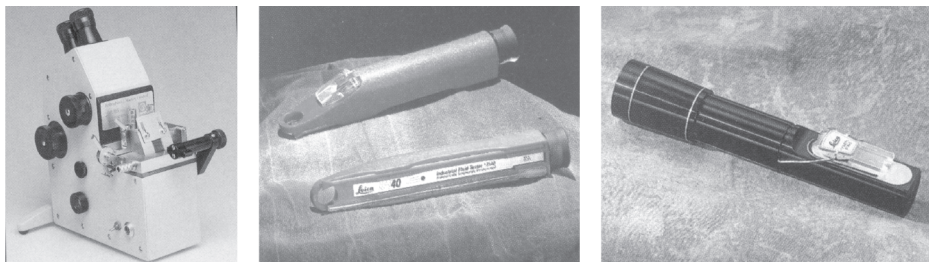
A melasz szárazanyag-tartalmának meghatározása a szabványos szárítószekrényben történő szárítással a nagy cukortartalom miatt rendkívül nehéz, ezért ennek mérésére különböző indirekt módszereket dolgoztak ki. A refraktometriás módszer azon alapszik, hogy adott hőmérsékleten egy oldat sűrűsége, illetve törésmutatója szoros kapcsolatban van annak koncentrációjával, amennyiben tehát refraktométerrel meghatározzuk a vizsgálandó anyag (jelen esetben a melasz) törésmutatóját, annak alapján következtethetünk annak látszólagos szárazanyag-tartalmára.

A refraktometriás mérés elvét az alábbiak szerint lehet megfogalmazni. A fény sebessége megváltozik, ha egy fázishatáron átlépve optikailag eltérő tulajdonságú közegbe kerül. A sebesség megváltozása az új közegben irányváltozást idéz elő, amely jelenséget fénytörésnek nevezzük. A fénytörés a törésmutatóval jellemezhető, ami egyenlő a két egymással érintkező közegben a fénysebesség hányadosával, illetve a fázishatáron áthaladó fény beesési szöge szinuszával és a törési szöge szinuszával hányadosával. Két közeget összehasonlítva azt a közeget tekintjük optikailag sűrűbbnek, ahol a fény sebessége kisebb. A fény sebessége vákuumban a legnagyobb; a vákuumra vonatkoztatott törésmutatót abszolút törésmutatónak nevezzük. A levegőre vonatkoztatott törésmutató csak alig különbözik az abszolút törésmutatótól, a gyakorlatban ezért ezt használjuk.



70. ábra. Keringető- és kémcsőtermosztát a pontos hőmérséklet beállítására

A melasz szárazanyag-tartalmának meghatározása refraktométerrel az alábbiak szerint történik: A refraktométert úgy helyezzük el, hogy a tárgylemez előtt lévő tükör segítségével maximális fény jusson a tárgylemezre. A jól homogenizált mintát vékony rétegben egy kis spatula segítségével egyenletesen elkenjük a refraktométer tárgylemezén, majd tetejét lezárjuk, ügyelve arra, hogy a védőablak fedelét felnyissuk. A refraktométert a pontos leolvasás érdekében szükség esetén termosztáljuk (70. ábra). A készülék megfigyelő távcsövén keresztül két átlósan egymást keresztező vonalat látunk, melynek felső mezője sötét, az alsó pedig világos. A refraktométer (71. ábra) jobb és bal oldalán elhelyezett állítógombokat addig forgatjuk, amíg a sötét-világos rész a legélesebb kontúrral pontosan a két vonal metszéspontjában helyezkedik el. Ebben a helyzetben leolvassuk a megfigyelő távcső alsó részénél elhelyezkedő törésmutató- és szárazanyag-skálán a megfelelő értékeket.

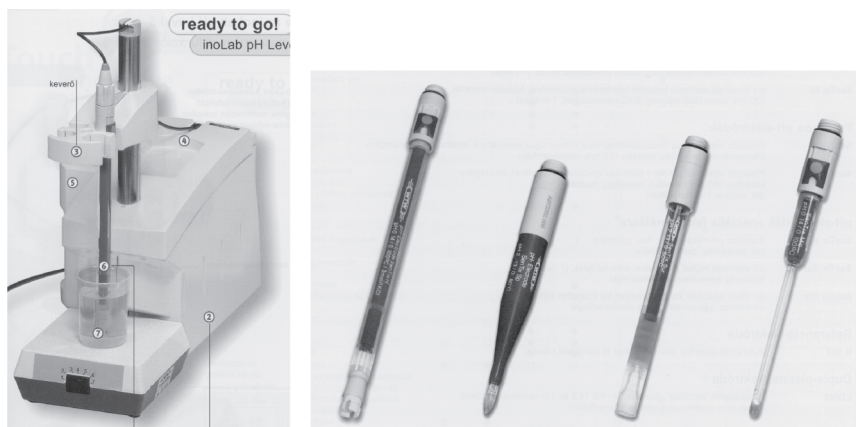


71. ábra. Különböző típusú refraktométerek

3.3.4.3.2.2. A melasz pH-jának elektrometriás meghatározása

A melasz pH-ja a benne oldott anyagok következtében az alkalmazott technológia függvényében 6,4–8,4 között változik. A melasz pH-jának mérése során bármilyen precíziós pH-mérőt, üveg- és referenciaelektródot vagy kombinált üvegelektrodot használhatunk. Ez utóbbi együttesen tartalmazza az üvegelektrodot és a másodfajú referenciaelektrodot. Mivel a melasz pH-ja semleges, illetve a gyengén lúgos tartományban várható, ezért az elektrometriás rendszert 7-es pH-jú pufferoldat segítségével hitelesítjük. A pH mérésével egy korábbi fejezetben már foglalkoztunk, ezért ebben a fejezetben csak a melaszra vonatkozó speciális előkészítő eljárást ismertetjük. A 72. ábrán egy pH-mérő és néhány elektróda látható.

Mivel a melasz sűrűn folyó viszkózus folyadék, ezért pH-ját közvetlenül mérni nem lehet. Ezért a minta-előkészítés során 50 g melaszt kb. 40 cm³ desztillált vízzel elegyítünk, az elegyet 100 cm³-es mérőlombikba visszük és jelre töltjük. Többszöri összerázás után ezt az 50 vegyesszázalékos oldatot használjuk a pH-mérésre. A hígítás a melasz nagy pufferkapacitása miatt nem jelent jelentős változást az eredeti pH-hoz viszonyítva.

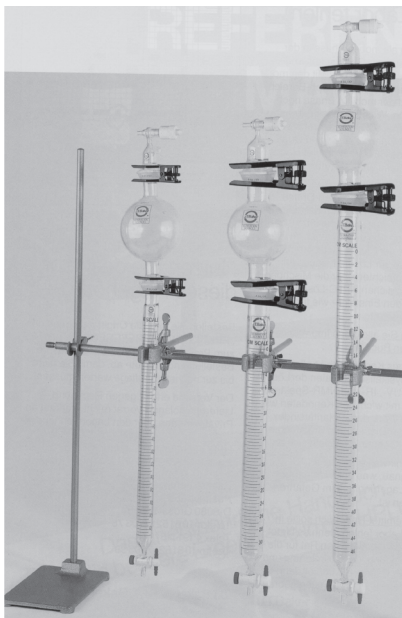


72. ábra. Egy pH-mérő és a kapcsolódó mérőelektródák

3.3.4.3.2.3. A melasz összes aniontartalmának meghatározása ioncserével

Az összes aniontartalom meghatározásakor a vizes melaszoldatot hidrogénion formában lévő, erősen savas kationcserélő oszlopon bocsátjuk át, majd az oszlopon áthaladó oldatban lévő savak mennyiségét acidimetriásan meghatározzuk, és az eredményt 100 g látszólagos szárazanyag-tartalomra adjuk meg. A kationcsere folyamán a kationokkal ekvivalens hidrogénion megy az oldatba, amelynek mennyiségéből következtethetünk a kationok, illetve az ezekkel ekvivalens anionok mennyiségére.

A vizsgálat során az 50 vegyesszázalékos melaszoldatból 20 cm^3 -t egy 100 cm^3 -es Kohlrausch-lombikba mérünk, hozzáadunk egy késhegynyi aktív szenet, a lombikot desztillált vízzel jelre töltjük, majd összerázás után redős szűrőpapíron leszűrjük. A szűrletből 25 cm^3 -t $1,5\text{--}2,0\text{ cm}^3$ /perc sebességgel átbocsátunk a kationcserélő oszlopon; az oszlopról távozó folyadékot pedig egy titráló lombikban fogjuk fel. (A kationcserélő oszlop 12 cm hosszú és 1,2 cm átmérőjű, a töltet Varion KS kationcserélő műgyanta. A kationcserélő műgyanta oszlopba töltése előtt egy 5 mm vastagságú üvegyapot réteget helyezünk el a kromatografáló oszlop alján, és erre töltjük rá a 12 cm gyantát. A gyanta hidrogénformába hozása során $2\text{--}4\text{ cm}^3$ /perc átfolyási sebességgel kb. 100 cm^3 2 mólós sósavoldatot bocsátunk át az oszlopon, majd annyi desztillált vizet engedünk rá, hogy a lecsepegő folyadék az ezüst-nitráttal már ne adja a kloridok jellemző fehér csapadékos reakcióját. Néhány kromatográfiás oszlop a 73. ábrán látható.)



73. ábra. Különböző kromatográfiás oszlopok

A mintaoldat oszlopon történő átbocsátása után még kb. 60–70 cm³ térfogatú desztillált vizet bocsátunk át az oszlopon 2–4 cm³/perc átfolyási sebességgel, aminek segítségével az ioncserét tökéletessé tesszük, illetve a kationokkal ekvivalens hidrogénionokat a titráló lombikba tökéletesen átmossuk. Az ioncserélő oszlopon lecsepegő oldatot 0,1 mólos nátrium-hidroxid-oldattal fenoltaleinindikátor mellett megtitráljuk. A melasz összes aniontartalmát 100 g látszólagos szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva az alábbi képlet segítségével számoljuk:

$$A = \frac{40 \cdot a}{b \cdot d} f \text{ mekv}/100\text{Bx}^{\circ},$$

ahol: a = a 0,1 mólos nátrium-hidroxid mérőoldat fogyása (cm³),
 f = a mérőoldat faktora,
 b = az aktív szénrel kezelt oldat látszólagos szárazanyag-tartalma,
 d = az előkészített oldat sűrűsége 20 °C-on (átlagosan 1,024 g/cm³),
 Bx^o = Brix-fok a látszólagos szárazanyag-tartalom mértékegysége.

3.3.4.3.2.4. A melasz kálium- és nátriumtartalmának meghatározása lángfotometriásan

Az előző fejezetben leírt összes aniontartalom-meghatározás során a melaszban lévő kationok a kationcserélő műgyantán megkötődtek, amelyek onnan híg sósav-oldattal lemoshatók, majd ezt követően az eluátumban lévő kálium- és nátriumionok koncentrációja lángfotometriásan mérhetővé válik. E módszer alkalmazásával feleslegessé válik a nagy cukortartalmú melasz rendkívül körülményes szárítása, illetve izzítása. A vizsgálati eljárás során az előző fejezetben leírt ioncserét követően a gyantaoszlopon 100 cm³ 2 mólos sósavoldatot engedünk át 2–4 cm³/perc sebességgel, amelynek során az oszlopról lecsurgó folyadékot egy 100 cm³-es mérőlombikban fogjuk fel. Desztillált vízzel a lombikot jelre töltjük, összerázzuk, és az így kapott oldat kálium- és nátriumion koncentrációját atomabszorpciós fotométerrel, lángemissziós üzemmódba kapcsolva, levegő-acetilén gázzal működtetve meghatározzuk. A melasz kálium-, illetve nátriumtartalmát mg/kg mértékegységben adjuk meg a lángfotometriásan mért koncentráció (mg/dm³) és a hígítási tényező (40) figyelembevételével.

3.3.4.3.3. A háztartási keményítő tisztaságának vizsgálata polarimetriás módszerrel

A vizsgálat során a mintát forró hígított kénsavval hidrolizáljuk, majd mérjük az oldat optikai forgatóképességét. Ha a minta oldható szénhidrátokat vagy egyéb, optikailag aktív anyagokat is tartalmaz, megváltozik a forgatóképessége. A forgatóképesség megváltozását okozó anyagok átalakításához a vizsgálandó anyagból külön bemérést végzünk, abból vizes kivonatot készítünk, majd a szilárd mintához hasonlóan meghatározzuk annak forgatóképességét.

A meghatározás során egy 100 cm³-es Kohlrausch-lombikba bemérünk 2,5 g vizsgálandó anyagot, és körkörös mozzgatással történő keverés közben részletekben hozzáadunk 50 cm³ 1,124%-os sósavoldatot. Ezt követően a lombikot 15 percen át forrásban lévő vízfürdőbe tartjuk, és hárompercenként körkörösén megrázzuk. A negyedóra letelte után a lombikot csapvízzel szobahőmérsékletűre hűtjük, majd hozzáadunk 3–3 cm³ Carrez I- és Carrez II-oldatot. A lombikot desztillált vízzel jelig töltjük, tartalmát összerázzuk, 20 perc után redős szűrőpapíron leszűrjük, és megmérjük a kristálytisztá szűrlet forgatóképességét.

A keményítő mellett lévő egyéb optikai forgatóképességet mutató vegyületek mérésére egy 100 cm³-es Kohlrausch-lombikba bemérünk 2,5 g vizsgálandó anyagot, hozzáadunk 50 cm³ desztillált vizet, majd 30 percig állni hagyjuk, miközben többször körkörösén megmozgatjuk, a vízzeloldható optikailag aktív anyagok kioldódásának elősegítésére. Ezt követően Carrez I- és Carrez II-oldattal derítést végzünk, majd a szűrletből 50 cm³-t egy 100 cm³-es Kohlrausch-lombikba pipettázunk. Ehhez hozzáadunk 2,25 cm³ 25%-os sósavoldatot, és a hidrolízisműveleteket az előzőekhez hasonlóan elvégezzük. Ezután a lombikot desztillált vízzel jelre töltjük, majd összerázás után mérjük az oldat forgatóképességét. A vizsgálati anyag keményítőtartalmát az alábbiak szerint számoljuk:

$$K = 10,88 \cdot (A - 2k),$$

ahol: A = a keményítő hidrolízise után mért forgatóképesség (körök),
 k = a korrekciós érték meghatározása esetén mért forgatóképesség (körök).

3.3.5. A provitaminok és a vitaminok meghatározása

Élelmiszerek provitaminjainak és vitaminjainak meghatározása a többi komponenshez viszonyítva relatíve összetett analitikai feladat, mert egyrészt koncentrációjuk kicsi a többi komponenshez képest, másrészt a legtöbb vitamin érzékeny az oxidációra és néhány még a fényre is. Ezért csak kíméletes analitikai műveletekkel, szükség esetén semleges atmoszférában vagy a direkt fény kiküszöbölésével lehet analizálni. A vitaminok kémiai összetételüket tekintve olyan sokfélék, hogy meghatározásukra általános eljárást nem lehet kidolgozni, csak egyedi analitikai műveletekkel lehet őket elemezni, és meghatározásuk legtöbbször még különböző előkészítési műveleteket is igényel. A legtöbb esetben a meghatározás előtt a zavaró anyagokat el kell távolítani, a vitaminokat extrakcióval ki kell vonni, a kötött formában lévőket kötéseikből fel kell szabadítani, majd ezután következhet az azonosítás és a mennyiségi meghatározás. Általánosságban elmondható, hogy a zsírolldható vitaminok kivonását szerves oldószeres extrakcióval végezzük, a vízzeloldható vitaminokat pedig vízzel vagy pufferoldattal nyerjük ki a vizsgálandó anyagból. A kivonás után az extraktumot általában kromatográfiás módszerrel tisztítjuk, majd tisztítás után alkalmazhatjuk a klasszikus analitikai

módszereket, fotometriás és kalorimetriás, spektrofotometriás, fluorimetriás és főként kromatográfiás eljárásokat.

3.3.5.1. A karotin- és a xantofilltartalom meghatározása

A módszer alkalmas légszáraz zöld vagy légszárazra szárított friss zöldnövények karotin- és xantofilltartalmának meghatározására. E módszer szerint a légszáraz zöld vagy szárított mintákat hexán és aceton vagy petroléter és aceton elegyével szobahőmérsékleten nitrogénáram alatt extraháljuk, majd az extraktumot metanolos kálium-hidroxidos oldattal kezeljük. A bepárolt extraktum maradékát petroléterben feloldjuk, és alumínium-oxid oszlopon kromatografáljuk. **Az eluátum karotin-, illetve xantofilltartalmát spektrofotometriásan mérjük.** A meghatározás során extrahálási, kromatografálási és spektrofotometriás méréseket végzünk. Az extrahálás során a mintából, annak várható karotintartalmától függően 1–3 grammot mérünk le 1 mg pontossággal, és csiszoldugós mérőhengerben vagy mérőlombikban 30 cm³ n-hexán és aceton 7:3 térfogatarányú elegyét adjuk hozzá. Nitrogéngáz befúvásával a levegőt az üvegedényből elűzzük, az üvegedényt a csiszolt dugóval bedugjuk és 1 éjszakán át sötétben állni hagyjuk. Kromatografálás előtt 1 órával hozzáadunk 2 cm³ 40%-os metanolos kálium-hidroxid-oldatot, összerázzuk, és 30 percig sötétben állni hagyjuk. Ezt követően hozzáadunk 2 cm³ vizet, összerázzuk, és hagyjuk, hogy a csapadék leülepedjen, majd még 70 cm³ hexánt vagy petrolétert adunk hozzá, elegyítjük, és megvárjuk, míg a csapadék ismét leülepszik. A felső tiszta fázisból a várható karotintartalomtól függő mennyiséget egy csiszolatos gömbömbikba kimérünk, majd rotációs gyorsbepárlón 50 °C-on bepároljuk. A bepárlási maradékot 20 cm³ petroléterben feloldjuk.

Kromatografáláskor a petroléterben szuszpendált alumínium-oxidból egy 15 cm magas oszlopot készítünk, ügyelve arra, hogy az oszlop elkészülte után mindig legyen oldószer az adszorbens felett. Az alumínium-oxid tetejére 2 cm vastagon vízmentes nátrium-szulfátot rétegzünk, és ennek a tetejére visszük fel az előzőek szerint elkészített minta petroléteres oldatát. A kromatografálóoszlopot vízsugár-vákuummal úgy szívjuk meg, hogy az eluátum mennyisége másodpercenként 2–3 csepp legyen. Az eluálást addig folytatjuk, míg a lecsepegő eluátum már szintelen nem lesz. A mérőlombikba gyűjtött eluátumot petroléterrel jelig töltjük és összerázzuk. A karotinfrakció eltávolítása után egy másik mérőlombikba gyűjtjük a xantofillt tartalmazó eluátumot, melyet az oszlopra vitt etanollal oldunk le. A xantofill-frakció távozása után a lombikot etanollal jelig töltjük és összerázzuk.

A spektrofotometriás mérés során a petroléteres eluátum karotintartalmának mérésekor az abszorbanciaértéket 450 nm-es hullámhosszon, 1 cm-es küvettában, petroléterhez hasonlítva mérjük le. A xantofilltartalom meghatározását is ugyanilyen körülmények között végezzük etanolhoz viszonyítva. A karotin- és a xantofilltartalom számításánál figyelembe kell venni az eluátum abszorbanciáját, az eluátum térfogatát, a meghatározáshoz bemért minta tömegét, valamint a ka-

rotintartalom-meghatározásnál a β -karotin, a xantofilltartalom-meghatározásnál pedig a xantofill 1%-os petroléteres, illetve etanolos oldatának 1 cm-es küvettában, 450 nm-en mért elméleti abszorbanciaértékét. Az eredmény két párhuzamos mérés számtani középértéke. A párhuzamos mérések közt megengedhető eltérés a középérték 8%-a. Az eredményt egész számra kerekítve mg/kg-ban adjuk meg.

3.3.5.2. Zsíroltható vitaminok meghatározása

3.3.5.2.1. Az A-vitamin-tartalom meghatározása HPLC-módszerrel

A módszer alkalmas élelmiszerek A-vitamin-tartalmának meghatározására. Az eljárás során a megfelelően előkészített mintát lúgos közegben hidrolizáljuk, a felszabadult retinolt pedig petroléterrel extraháljuk. Az extraktumot bepároljuk, metanolban feloldjuk, a **retinoltartalmat pedig nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, fordított fázisú oszlopon, UV detektálással, 325 nm hullámhosszon határozzuk meg.** A retinol felszabadítására lúgos közegben végzett hidrolízis körülményei függenek a várható A-vitamin-tartalomtól. Általánosságban a hidrolízist az alábbi körülmények között végezzük. Az A-vitamin-tartalomtól függően 5–15 g mintát 0,02 g pontossággal egy Erlenmeyer-lombikba mérünk, hozzáadunk 50 cm³ etil-alkoholt, 2 cm³ 3%-os nátrium-szulfid-oldatot, 2 cm³ 10%-os aszkorbinsav-oldatot és 1 cm³ 0,1%-os metanolban oldott BHT-t, végül 10 cm³ 60%-os kálium-hidroxid-oldatot. A lombik tartalmát óvatosan körkörösén összerázzuk, és 30 percre nitrogénáram mellett 70 °C-os hőmérsékletű vízfürdőbe mérítjük. Ez idő alatt 5 percenként intenzíven körkörösén összerázzuk, majd a hűtőt 10 cm³ etil-alkohollal leöblítjük, és a lombikot vízcsap alatt szobahőmérsékletűre lehűtjük. A hidrolizátumot 50 cm³ vízzel, majd etil-alkohollal az oldhatatlan részekkel együtt 200 cm³-es mérőlombikba mossuk, a mérőlombik tartalmát körkörös mozgatással összerázzuk, szobahőmérsékletűre hűtjük, majd etil-alkohollal jelig töltjük. A bedugaszolt mérőlombikot többszöri átforgatással elegyítjük, majd sötétben 15 percig üledni hagyjuk. Közben egy rázótolcsérbe bemérünk 50 cm³ 10%-os nátrium-klorid-oldatot és 50 cm³ petrolétert, és a mérőlombikban lévő felülúszóból ehhez pipetázunk hozzá a várható A-vitamin-tartalom függvényében 10–100 cm³-t. A rázótolcsért bedugaszoljuk, 1 percig intenzíven rázzuk, majd a fázisok szétválása után az alsó fázist egy 400 cm³-es főzőpohárba engedjük le, a felső fázist pedig Erlenmeyer-lombikba töltjük és sötét helyre tesszük. Az alsó fázis kirázását még kétszer 50-50 cm³ petroléterrel megismételjük, az egyesített petroléteres fázisokat 10 g vízmentes nátrium-szulfáttal víztelenítjük, majd a petrolétert maximum 40 °C-os hőmérsékleten, nitrogénáramban bepároljuk úgy, hogy az extraktum térfogata kb. 5 cm³-re csökkenjen.

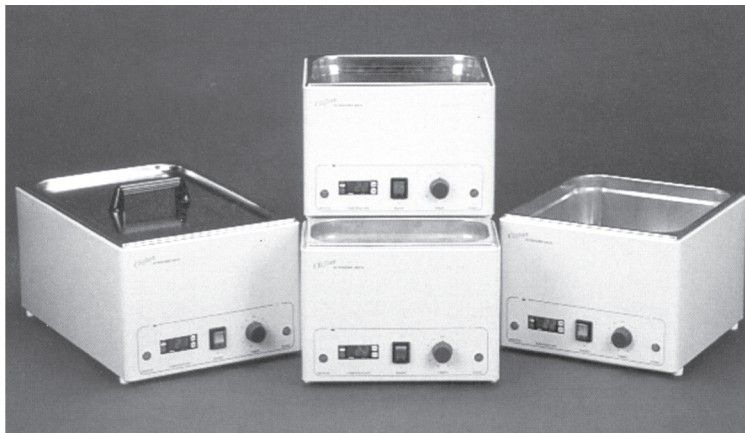
A petroléteres extraktumhoz 5 cm³ metanolt adunk, és a rotációs bepárlón térfogatát 2 cm³-re csökkentjük. Ezt követően a maradékot 2 cm átmérőjű G4-es üvegszűrőn keresztül egy vákuumszűrő segítségével 10 cm³-es kalibrált kémcső-

be szűrjük. A gömblombikot a szűrőn át metanollal a kémcsőbe mossuk, és a kémcső térfogatát 10 cm^3 -re állítjuk be. Az így nyert oldat 1 hétig alkalmas az A-vitamin-tartalom meghatározására.

Az így előkészített oldat $20\text{ }\mu\text{l}$ -ét injektáljuk a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiába. Az elválasztást 25 cm hosszú, $7\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$ szemcsenagyságú, C18 típusú fordított fázisú oszloppal végezzük, metanol-víz $95:5$ arányú elegyét $1,5\text{ cm}^3/\text{perc}$ áramlási sebességgel áramoltatva. A retinolsúcsot annak retenciós ideje alapján azonosítjuk. A mennyiségi meghatározáshoz egy retinil-acetát alapoldatot használunk, amely izopropil-alkoholban mintegy 200 ezer NE egység ($1\text{ NE} = 0,3\text{ }\mu\text{g}$ A-vitamin) A-vitamint tartalmaz 100 cm^3 -enként. Ebből tízszeres hígítást képezünk, és ezt a tízszeresen hígított retinil-acetát mérőoldatot a mintával teljesen megegyező módon készítjük elő az A-vitamin meghatározásához. Az így előkészített standardoldatból a mintához hasonlóan $20\text{ }\mu\text{l}$ -t injektálunk a HPLC analitikai oszlopára, és ezt követően a standard és a minta csúcs alatti területének összehasonlítása után a minta A-vitamin-tartalma számolható. A vizsgálat ismételhetősége a vitamintartalom függvényében a középérték $10\text{--}20\%$ -a.

3.3.5.2.2. A D_3 -vitamin meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

A módszer alkalmas vitamin-alapanyagok, panelek és premixek D_3 -vitamin-tartalmának meghatározására. **A módszer szerint a mintát metanollal extraháljuk, és az így kapott metanolos oldatból szűrés vagy centrifugálás után $50\text{ }\mu\text{l}$ -t injektálunk a HPLC-készülékbe, az abszorbanciát pedig 265 nm -nél mérjük.**



74. ábra. Ultrahangfürdők

Az eljárás során a vizsgálandó mintából a vitamintartalom függvényében $1\text{--}10$ grammot mérünk be egy 100 cm^3 -es Erlenmeyer-lombikba, hozzáteszünk

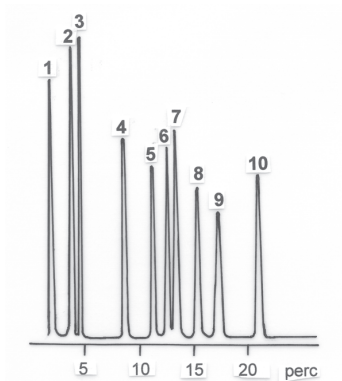
50 cm³ metanolt, és a gondosan lezárt lombikot ultrahangfürdőbe (74. ábra) helyezzük 2 x 10 percre, ennek hiányában a lombikot 30 percig rázógéppel rázatjuk. A ráztatás vagy ultrahangozás után az oldatot vákuumban szűrjük vagy centrifugáljuk, a tiszta oldatot vákuumban 3–4 cm³-re bepároljuk, majd eluenssel 6 cm³-re egészítjük ki. A meghatározást 250 x 4,6 mm-es ODS HIP-5 kromatográfiás oszlopon végezzük. 200 cm³ metanol és 800 cm³ acetonitril elegyével 1,5 cm³/perc eluens áramlási sebesség mellett kromatografálunk, és a D₃-vitamin csúcsát 10–11 perc retenciós idő után 265 nm-en detektáljuk. Ezt követően 1,25 µg/cm³, 2,5 µg/cm³ és 5,00 µg/cm³ koncentrációjú D-vitamin-tartalmú standardoldatokat készítünk metanollal, és segítségével hitelesítőgörbét veszünk fel. A hitelesítőgörbe segítségével a minta ismeretlen D₃-vitamin-tartalma meghatározható. Az eredményt µg/g értékben adjuk meg. Az azonos mintákból végzett két párhuzamos érték között megengedett legnagyobb eltérés az eredmény 15%-a. A zsírolható vitaminok gyakorlatban használatos egységeit és azok egymásba történő átszámolását, valamint a mérési hullámhosszakát a 12. táblázat tartalmazza.

3.3.5.2.3. E-vitamin (α-tokoferol) meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

A módszer alkalmas vitaminalapanyagok, panelek és premixek E-vitamin-tartalmának meghatározására. **Élelmiszerek E-vitamin-tartalma a természetes tokoferoltartalom, valamint a természetes és hozzáadott tokoferol-acetát hidrolíziséből származó α-tokoferol összege**, amelyet mg/kg egységekben fejezünk ki. A módszer szerint a megfelelően előkészített mintát lúgos közegben hidrolizáljuk, a hidrolízis végén az elegyet sósavval megsavanyítjuk. A felszabadult α-tokoferolt petroléterrel extraháljuk, az extraktumot bepároljuk és metanolban feloldjuk. **Az α-tokoferol-tartalmat nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával fordított fázisú oszlopon UV-detektálással 292 nm hullámhosszon határozzuk meg.** A módszer részletes leírása meghaladja a könyv kereteit.

3.3.5.2.4. A zsírolható vitaminok szimultán meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

A zsírolható vitaminok a megfelelően megválasztott kromatográfiás körülmények között egy lépésben is szétválaszthatók, illetve meghatározhatók. A 75. ábra 10 különböző vitamin, illetve vitaminszármazék szétválasztását mutatja.



A szétválasztott vitaminok a következők: 1. menadion (K_3 -vitamin), 2. retinol (A-vitamin), 3. retinol-acetát, 4. menaquinon (K_2 -vitamin), 5. δ -tokoferol, 6. ergo-kalciferol (D_2 -vitamin), 7. kole-kalciferol (D_3 -vitamin), 8. α -tokoferol (E-vitamin), 9. tokoferol-acetát, 10. fillo-quinon (K_1 -vitamin)

75. ábra. A zsírolldható vitaminok szétválasztása és meghatározása folyadékkromatográfiával

A szétválasztás körülményei az alábbiak:
Oszlop: 150 x 4 mm GRA-SIL 120 ODS-5 ST 5 μ m,
acetonitril mozgó fázis 0,8 cm³/perc áramlási sebességgel,
7 MPa nyomás, 30 °C hőmérséklet,
UV-detektálás 280 nm-en.

12. táblázat. A zsírolldható vitaminok gyakorlatban használatos egységei és azok egymásba történő átszámolása, valamint a mérési hullámhosszok

Vitamin	Egység	Mérési hullámhossz (nm)
A-vitamin	1NE = 0,3 μ g	325
E-vitamin	1NE = 1 mg	292
D-vitamin	1NE = 0,025 μ g	265
K-vitamin	mg/kg; μ g/kg	255
Karotin	mg/kg	451

3.3.5.3. A vízoldható vitaminok meghatározása

3.3.5.3.1. A B₁-vitamin- (tiamin-)tartalom meghatározása HPLC-vel fluorimetriás detektálással

A módszer alkalmas dúsított élelmiszerekben a hozzáadott B₁-vitamin meghatározására. A módszer szerint **a mintát hidegen zsírtalanítjuk**, Selecton B₂ jelenlété-

ben **híg sósavval**, majd **koncentrált sósavval kezeljük**. Nitrogénatmoszférában 80–90 °C-os vízfürdőn fény kizárása mellett oldjuk, majd hígítás és szűrés után **lúgos közegben tiokrommá oxidáljuk**. A meghatározást **HPLC-vel, spektrofluorimetriás detektálással, a mintával azonos módon elkészített tiamin-klorid-hidroklorid standardoldathoz viszonyítva végezzük**.

A vizsgálati eljárás során a minta várható B₁-vitamin-tartalmától függően 2,5–10 grammot mérünk be egy 250 cm³-es Erlenmeyer-lombikba, és 100 cm³ 0,1 mólos sósavval szuszpendáljuk, majd még 1 cm³ tömény sósavat adunk hozzá. (Amennyiben a minta zsírtartalma magas, úgy a mintát egy tölcséren lévő szűrőpapírra tesszük, és több részletben 100 cm³ körüli mennyiségű n-hexánnal vagy petroléterrel átmossuk, majd száradni hagyjuk.) Ezt követően 80–90 °C-os vízfürdőn visszafolyós hűtéssel, fénytől védve 30 percig oldjuk, majd csapvízzel lehűtjük, szűrés nélkül 200 cm³-es mérőlombikba vesszük, desztillált vízzel jelig töltjük, alaposan össze-rázzuk, majd ülepedni hagyjuk. Az oldat tisztáját a várható B₁-vitamin-tartalomtól függően desztillált vízzel 250 cm³-re hígítjuk, összerázzuk és szűrjük. A szűrlet 10 cm³-éhez oxidációs edényben automata pipettával hozzáadunk 5 cm³ oxidálóoldatot, amely 2%-os kálium-ferricianid és 30%-os nátrium-hidroxid 1:1 arányú elegye, és az egész oldatot alaposan átkeverjük. Ezt követően hozzáadunk 0,5 cm³ tömény foszforsavat és csapvíz alatt lehűtjük. A mintaoldatból 20 cm³-t C18-as tisztítóoszlopon préselünk keresztül, és az így megtisztított oldatból injektálunk 20 µl-t a C18-as töltetű analitikai oszlopra. A B₁-vitamin oxidált származékát metanol : foszfát puffer elegyével eluáljuk 1,2–1,5 cm³/perc áramlási sebesség mellett, majd fluoreszcenciás detektálással 320 nm-es extinkciós és 424 nm-es emissziós hullámhossznál határozzuk meg a B₁-vitamin mennyiségét. A kalibráció során az oxidációs edénybe 10 cm³ vízbe bemérünk 100, illetve 200 µl standardoldatot, amely 250–500 ng tiamin-klorid-hidrokloridot tartalmaz, majd a mintához hasonlóan oxidáljuk, tisztítjuk és kromatografáljuk őket. A minta B₁-vitamin-tartalmát a mintánál kapott csúcsmagasságból vagy területből, a vizsgálatához bemért minta tömegéből, illetve a standard egységnyi koncentrációjára jutó csúcsmagasságból vagy területből számoljuk. Az azonos mintából végzett két párhuzamos mérés értéke között megengedett legnagyobb eltérés 20 µg/kg B₁-vitamin-tartalom felett az eredmény 15%-a.

3.3.5.3.2. A nikotinsavamid meghatározása HPLC-módszerrel

A módszer alkalmas az élelmiszerekhez hozzáadott nikotinsavamid-tartalom meghatározására. **Az eljárás során a mintát metanol : foszfát puffer eleggyel extraháljuk, majd az extraktum szűrése és centrifugálása után a nikotinsavamid-tartalmat folyadékkromatográfiásan határozzuk meg 254 nm-en UV-detektálással, ionpárhépzéssel.**

Az eljárás során a minta nikotinsavamid-tartalmától függően 1–5 grammot mérünk be egy alufóliával bevont Erlenmeyer-lombikba, és hozzáadunk 100 cm³ extrahálószeret, ami 15 cm³ metil-alkohol és 85 cm³ 1%-os foszfátpuffer elegye.

Az extrakciót 3 x 5 perces ultrahangozással végezzük, amelynek során a túlzott felmelegedés elkerülése végett az ultrahangozások között kétperces szünetet tartunk. Az extrahálás után a mintát leszűrjük, térfogatát mérjük, majd egy centrifugacsőbe 10 cm³-t pipettázunk belőle. 10 percig 10 ezer g-n centrifugáljuk, majd amennyiben szükséges, a folyadékkromatográfiás mozgófázissal szükség szerint hígítjuk. A megfelelően hígított és előkészített anyagból 50 µl-t injektálunk a folyadékkromatográf 25 cm hosszú fordított fázisú C18 típusú oszlopára. A mozgófázis 1 litere 1 g n-heptánszulfonsav-nátriumot, 125 cm³ metil-alkoholt és 875 cm³ 1%-os foszfátpuffert tartalmaz. A nikotinsavamid csúcsot 254 nm-en detektáljuk. A mennyiségi meghatározáshoz ismert mennyiségű nikotinsavamid standardot mérünk be 0,1 mg pontossággal, amelyhez hozzáadunk 100 cm³ folyadékkromatográfiás mozgófázist. Az oldódást ultrahangozással segítjük elő, majd az oldatot szükség szerint folyadékkromatográfiás mozgófázissal hígítjuk úgy, hogy annak koncentrációja 4–20 ng/cm³ között legyen. Az eredményt a standard csúcs alatti területe, a minta csúcs alatti területe, a hígítások és a bemérés figyelembevételével számoljuk, és mg/kg-ban adjuk meg az eredeti mintára vonatkoztatva. Párhuzamos mérés esetén a mérés pontossága az átlag 8%-a.

3.3.5.3.3. A C-vitamin-tartalom meghatározása

3.3.5.3.3.1. A C-vitamin-tartalom meghatározása 2,6-diklór-fenol-indofenolos titrimetriával

A módszer szerint **az aszkorbinsavat a mintából oxálsavoldattal vagy metafoszforsav-ecetsav elegyével extraháljuk, ezt követően pedig 2,6-diklór-fenol-indofenol színezékoldattal lazacrózsaszínig titráljuk.**

A minta-előkészítést követően a C-vitamin-tartalom függvényében 10–100 grammot mérünk be 0,1 mg pontossággal, majd a bemért minta grammokban kifejezett tömegéhez képest 1–5-szörös mennyiségű 2%-os oxálsav-oldattal vagy ecetsavas metafoszforsav-oldattal extraháljuk. Az oldatot leszűrjük, előntve a szűrlet első néhány cm³-ét, és ha szükséges, megfelelő hígítással érjük el, hogy a szűrlet aszkorbinsav-tartalma 0,1–1 mg/cm³ között legyen. Az így kapott oldatból kiveszünk három aliquot részt úgy, hogy abban az aszkorbinsav-tartalom 2 mg körül legyen, és titráljuk meg a 2,6-diklór-fenol-indofenol-színezékoldattal úgy, hogy a lazacrózsaszín legalább öt másodpercig megmaradjon. A titrálást megelőzően meghatározzuk a színezékoldat hatóértékét aszkorbinsav standardoldatok segítségével, és a hatóértéket az 1 cm³ színezékoldattal ekvivalens aszkorbinsav mg-ban megadott mennyiségére fejezzük ki. A titrálást követően egy vakpróbát is készítünk, amelynek során a titrálást úgy végezzük el, hogy az eljárás során a minta helyett azonos térfogatú extrahálóoldatot használunk. Az eredmény számolásánál a vakpróbánál fogyott színezékoldat térfogatát a minta titrálásához fogyott színezékoldat térfogatából le kell vonni. Az eredményt a következő képlet szerint számoljuk, és mg/100 g termék mértékegységben adjuk meg:

$$\text{Aszkorbinsav-tartalom (mg/100 g)} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot m_1}{m_0} \cdot 100,$$

ahol: m_0 = a titráláshoz felhasznált aliquot rész tömege (g),
 m_1 = az 1 cm³ színezékoldattal ekvivalens aszkorbinsav tömege (mg),
 V_0 = a titráláshoz fogyott színezékoldat térfogata (cm³),
 V_1 = a vakpróbára fogyott színezékoldat térfogata (cm³).

Az eredmény a három meghatározás számtani középértéke. A vizsgálatot zavarják a vas-, a réz- és az ónionok, a redukálóanyagok, a hidrogén-szulfidok, a szulfitok és a kén-dioxid.

3.3.5.3.3.2. Az aszkorbinsav-tartalom meghatározása spektrofotometriás módszerrel

A módszer szerint a mintából **az aszkorbinsavat oxálsavoldattal vagy metafoszforsav : ecetsav elegyével extraháljuk. Az aszkorbinsav a 2,6-diklór-fenol-indofenol színezéket kvantitativ redukálja; a feleslegben lévő színezékanyagot xilollal extraháljuk, és az oldat abszorbanciáját 500 nm-en, spektrofotometriásan meghatározzuk.** Az eljárás során az előző fejezetben leírt extrakció szerint úgy kell eljárni, hogy az oldat 0,05–0,5 mg aszkorbinsavat tartalmazzon cm³-enként. Ebből az oldatból 1–5 cm³ mennyiséget pipettázzunk centrifugacsőbe, és adjunk hozzá a mintával megegyező térfogatú 4-es pH-jú nátrium-acetát-ecetsav pufferoldatot. Késedelem nélkül adjunk hozzá feleslegben 2-6-diklór-fenol-indofenol-színezékoldatot, keverjük össze, és adjunk hozzá 10 cm³ xilolt, zárjuk le a centrifugacsövet és rázzuk erőteljesen 6–10 másodpercig. A rétegek szétválásáig centrifugálunk, majd óvatosan eltávolítjuk a felső xilolos réteget, beletöltjük a spektrofotométer küvetájába, és lemérjük a xilolos fázis abszorbanciáját 500 nm-en. Vakpróbaként a xilol abszorbanciáját határozzuk meg ugyancsak 500 nm-en. A mennyiségi meghatározáshoz helyezzünk 4 db centrifugacső mindegyikébe ugyanannyi extrahálóoldatot, mint amennyit a mintaanalízisek során használtunk, adjunk mindegyikhez ugyanannyi mennyiségű pufferoldatot, és ezt követően az egymás utáni csövekbe 0,2; 0,4; 0,6 és 0,8 cm³ színezékoldatot. Végezzük el a xilolos kirázást, határozzuk meg az abszorbanciákat, rajzoljuk meg a kalibrációs görbét, azaz ábrázoljuk az abszorbanciaértékeket a hozzáadott színezékoldat térfogatának függvényében. Az aszkorbinsav-tartalmat mg/100 g termékben kifejezve a következő képlettel számítjuk ki:

$$\text{Aszkorbinsav-tartalom (mg/100 g)} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot m_1}{m_0} \cdot 100,$$

ahol: m_0 = a meghatározáshoz felhasznált aliquot részben lévő minta tömege (g),
 m_1 = az 1 cm³ színezékoldattal ekvivalens aszkorbinsav tömege (mg),
 V_0 = a színezékoldat térfogata (cm³),
 V_1 = a színezékoldat felesleg térfogata a mért abszorbancia alapján a kalibrációs görbéről leolvasva (cm³).

Két azonos mintából végzett meghatározás eredménye között az eltérés a számtani középérték 3%-a. Ha a termék xilolban oldható színanyagot tartalmaz, akkor a xilolos fázis abszorbanciájának mérése után adjunk hozzá két csepp félig telített hidrokinon-oldatot, keverjük össze, hagyjuk állni 30 másodpercig, majd mérjük le ismét az abszorbanciáját. Az így mért abszorbanciát vonjuk le a xilolos fázis kezdeti abszorbanciaértékéből.

3.3.5.3.3.3. Az aszkorbinsav meghatározása HPLC-módszerrel

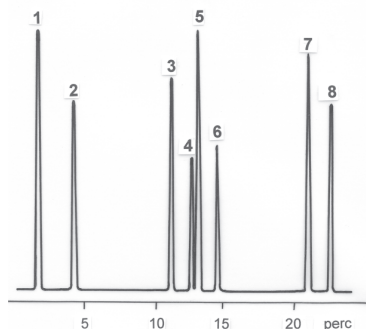
A módszer alkalmas élelmiszerek C-vitamin-tartalmának meghatározására. **A homogén laboratóriumi mintát metanol-foszfát puffer eleggyel extraháljuk, majd a leszűrt oldatot nagyhatékonyságú folyadékkromatográffal analizáljuk, elektrokémiai detektálást alkalmazva.**

A minta vitamintartalmának függvényében 1–10 g anyagot mérünk be egy 250 cm³-es Erlenmeyer-lombikba, és 50–100 cm³ extrahálószerrel extraháljuk. Az extrahálószer 350 cm³ metanoból és 650 cm³ 0,01 mólos kálium-dihidrogén-foszfát-oldatból áll, amelynek összekeverés után a pH-ját 1 mólos foszforsavval 3,0 értékre állítjuk be. A lombikot alufóliával bevonjuk; 30 perces rázatás vagy 3 x 5 perces ultrahangos kezelés után a lombik tartalmát vákuumban leszűrjük, esetleg öt percig 3500 g-n centrifugáljuk. A szilárd maradékot 5 cm³ extrahálószerrel mossuk, a szűrlet térfogatát feljegyezzük, és a tiszta oldatból 20–50 µl-t injektálunk a HPLC-készülékbe. A kromatografálásra Spherisorb 5 ODS 250 x 4,6 mm-es oszlopot használunk. Az eluens 350 cm³ metanolt, 650 cm³ 0,01 mólos kálium-dihidrogén-foszfát-oldatot és 2 cm³ decilamint tartalmaz. Az eluens pH-ját 3,0-ra állítjuk be 1 mólos foszforsav-oldattal. Az eluens áramlási sebessége 0,5 cm³/perc, a detektor ED 101 E elektrokémiai detektor. A méréshez szükséges kalibrációs egyenest a következőképpen készítjük a mélyhűtőben tárolt kristályos C-vitamin-standardból. 0,05; 0,1 és 0,2 mg/cm³ koncentrációjú oldatokat készítünk az extrahálószerrel, majd az oldatokat tízszeresére hígítva vesszük fel a kalibrációs egyenest. A C-vitamin rendkívüli bomlékonysága miatt a standardoldatokat nem célszerű egy héten túl használni. Ha az előzőeknek megfelelő koncentrációknál a kalibrációs egyenes lineáris, akkor további hígításokat nem kell készíteni.

Az eredményeket mg/kg-ban adjuk meg, figyelembe véve a minta C-vitamin-csúcsának magasságát, a szűrlet térfogatát, a minta extrakcióhoz felhasznált mennyiségét, valamint a hitelesítőgörbéhez bemért aszkorbinsav koncentrációját. A mérés hibája két párhuzamos mérést követően az átlag 10%-a.

A vízdoldható vitaminok a megfelelően megválasztott folyadékkromatográfia körülmények között nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával egymástól szétválaszthatók, illetve meghatározhatók. A 76. ábrán a következő vitaminok szétválasztása látható: 1-L-aszkorbinsav (C-vitamin), 2-nikotinsav, 3-piridoxin-hidroklorid (B₆-vitamin), 4-nikotinsavamid, 5-tiamin-hidroklorid (B₁-vitamin), 6-folsav, 7-ciano-kobalamin (B₁₂-vitamin), 8-riboflavin (B₂-vitamin). A meghatározás során CROM-SIL 120 ODS 5-ST, 5 µm töltetű, 150 x 4 mm-es oszlopot

használtak. Az eluens 6,6-os pH-jú, 20 μ M koncentrációjú kálium-foszfát-oldat volt, az áramlási sebesség 8 cm³/perc, a nyomás 9 MPa, a hőmérséklet 30 °C volt, a detektálást pedig 254 nm-en végezték.



A szétválasztott vitaminok a következők. 1. L-aszkorbinsav (C-vitamin), 2. nikotinsav, 3. piridoxin-hidroklorid (B₆-vitamin), 4. nikotinsavamid, 5. tiamin-hidroklorid (B₁-vitamin), 6. folsav, 7. ciano-kobalamin (B₁₂-vitamin), 8. riboflavin (B₂-vitamin)

76. ábra. A vízoldható vitaminok meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

3.3.5.3.3.4. A tej aszkorbinsav-tartalmának meghatározása

A módszer az aszkorbinsav oxidációján alapszik a 2,6-diklór-fenol-indofenollal 2,5–3,5 pH-tartományban. Ebben a pH-tartományban a C-vitamin tartóssága a tejszérumban jobb, mint kevésbé savas pH-nál. A titrálás során a reagens kék színe pirosba csap át.

A meghatározás során 25 cm³ tejet pipetázunk egy 250 cm³-es Erlenmeyer-lombikba, majd 20 cm³ vizet adunk hozzá. Intenzív összekeverés után hozzámérünk 5 cm³ 20%-os szulfo-szalicilsav oldatot, intenzíven összerázzuk, öt perc állás után redős szűrőpapíron szűrjük, amelynek során az első zavaros cseppeket a szűrőre visszavisszük. A tiszta szűrletből kiveszünk 20 cm³-t (amely megfelel 10 cm³ tejnek), egy fehér porcelántálba visszük, hozzáadunk 0,4 cm³ pH = 2,8-ra beállított 50%-os Na-acetát-oldatot, majd állandó keverés mellett megtiráljuk a mikrobüret-tából folyó színezékekkel addig, míg az oldat enyhén piros színt vesz fel, és színét legalább 30 másodpercig megtartja. A szűrlet kimérése után a titrálást két perc időtartamon belül el kell végezni. Az oldatok beállítását az előző fejezetekben leírtak szerint végezzük. A tej C-vitamin-tartalmának kiszámítására a következő képletet használjuk, figyelembe véve, hogy a titráláshoz felhasznált tejszérum 10 cm³ tejnek felel meg.

$$\text{Tej aszkorbinsav-tartalom mg/kg} = \frac{g \cdot e \cdot 1000}{10},$$

ahol: g = a színezékoldat-felhasználás (cm³), 20 cm³ tejszérumra,
e = 1 cm³ színezékoldatnak megfelelő aszkorbinsav mennyisége (mg).

3.3.5.3.4. Az U-vitamin-tartalom meghatározása automatikus aminosav-analizátorral

A módszer alkalmas élelmiszerek, elsősorban növényi anyagok sejtnedvei U-vitamin-tartalmának meghatározására. **Az U-vitamint tartalmazó anyagot 2,2 pH-jú citrátpufferben végzett homogénezés után 12 órán át 4–5 °C-on hűtőszekrényben tároljuk.** Ezt követően a homogenizátumot szűrjük, és **a szűrletből meghatározzuk az U-vitamint** (S-metil-metionin-szulfonium-klorid, a továbbiakban SMM). A módszerrel az SMM elválasztható a többi szabad aminosavtól, és mennyisége az ioncserés oszlopkromatográfia adta pontossággal meghatározható.

Az eljárás során a friss növényi mintából 30 grammot mérünk be egy gyorsfordulatú homogenizáló berendezés edényébe, hozzáadunk 30 cm³ 2,2 pH-jú Na-citrát puffert, öt percig intenzíven homogenizáljuk, majd további 12 óráig hűtőszekrényben tároljuk. A rostos részeket szűréssel eltávolítjuk, a szűrőn maradt anyagot 2 x 2 cm³ pufferrel átmossuk. A szűrletet lapos fenekű kristályosítócsészékbe öntjük, és hideg ventillációval 10 cm³-re besűrítjük. Az így kapott sűrítmenyből az automatikus aminosav-analizátor érzékenységeinek megfelelő mennyiséget viszünk fel a megfelelő hígítás után az ioncserélő oszlopra. **Az U-vitamin a bázikus aminosavak között, az alkalmazott pufferrendszer függvényében a lizin előtt vagy után jelenik meg a kromatogramon.** Az alkalmazott pufferrendszerek, hőmérséklet- és időprogramok, valamint a készülék kalibrálása teljes mértékben megegyezik a fehérjék aminosav-összetételének meghatározását tárgyaló fejezetben leírtakkal. Az U-vitamin-meghatározás pontossága a szabad aminosavak nagy koncentrációja és zavaró hatása miatt az átlag 5%-a.

3.3.5.3.5. A karnitin meghatározása fotometriával

Az emlősök szervezetében folyó zsírsavak β -oxidációjában jelentős szerepet játszik a karnitin. A zsírsavak β -oxidációja acetyl-CoA-egységekre a mitokondriumok belsejében történik, azonban a mitokondrium belső membránja nem átjárható a zsírsavak és a CoA-észterek számára, ezért a zsírsavak bejuttatása a karnitin segítségével történik. A karnitin a belső membránon történő transzportban vesz részt oly módon, hogy átveszi a zsírsav CoA-észtereinek savkomponensét saját hidroxilcsoportjára a megfelelő *transzferáz* enzimek segítségével. A zsírsav CoA-észter acilcsoportja a *karnitin-palmitoil transzferáz I* enzim segítségével átkerül a karnitinre, amely a belső mitokondrium-membrán külső felén helyezkedik el. Az így létrejött acil-karnitin a *karnitin transzlokáz* közvetítésével bejut a mitokondriumba, miközben egy szabad karnitinmolekula kikerül a citoplazmába. A belső mitokondrium-membrán belső feléhez kötött *karnitin-palmitoil transzferáz II* enzim egy szabad CoA-SH felhasználásával újra létrehozza az acil-CoA észtert, amely így be tud lépni a β -oxidációs ciklusba. Az acetyl-CoA és a karnitin reakciót az Edman-féle 5,5'-ditio-bis-(2-nitro-benzoészter)-val (DTBNB) követhetjük,

amelynek lényege a következő. A felszabaduló CoA-SH szabad tiolcsoportja révén a DTBNB-vel sárga színű termék keletkezése közben reagál, melynek abszorpciós maximuma 412 nm-nél van. A termék koncentrációjának mérésével a karnitin mennyisége meghatározható. Az SH-csoport és a DTBNB közötti reakció leírása a *Cisztintartalom meghatározása* című fejezetben megtalálható. A módszer pontos leírása meghaladja a könyv kereteit.

3.3.6. A mikotoxinok és meghatározásuk

3.3.6.1. A mikotoxinok általános jellemzése

A mikotoxinok a mérgező anyagok körébe tartozó toxikus vegyületek. Nevük magyarra lefordítva **gombamérgeket** jelent, ami arra utal, hogy **a mikotoxinokat az élelmiszerekben előforduló káros mikroorganizmusok, a penészgombák termelik.** Rendkívüli jelentőséggel bírnak a mezőgazdasági és élelmiszer-ipari termelés, a feldolgozás és tárolás, a takarmányozás és állattenyésztés, valamint a humán- és az állategészségügy területén is. Európában a mikotoxin-mérgezések és penészgombás fertőzések legjelentősebb kártétele az 1970-es években következett be a fusariumos gombafertőzések és az F_2 -fuzárium-toxin mérgezések következtében. A mikotoxinokkal mint potenciális rizikófaktorokkal a jövőben is számolni kell, ezért rendkívül fontos a humán megbetegedések, az állatmérgezések és az elhullások megelőzése és elhárítása, illetve csökkentése.

Mikotoxinoknak nevezzük a penészgombák olyan viszonylag kis molekulatömegű másodlagos anyagcseretermékeit, amelyek **a magasabb rendű élőlényekre mérgező hatásúak. Mikotoxikózisok a magasabb rendű élőlényeknek a mikotoxinok által okozott megbetegedései,** tehát valójában kémiai anyagok által kiváltott mérgezések. A mikotoxinok LD_{50} -értéke (mely érték a heveny toxikus hatás kifejezésére szolgál, azaz a mikotoxin azon testtömeg kilogrammra kifejezett mennyiségét jelenti, amely egyetlen kezelés esetén 21 napon belül a kísérleti állatok felét elpusztítja) rendkívül alacsony, ezért a mikotoxinok a mérgek legmérgezőbb csoportjába tartoznak. A mikotoxikózis nem tévesztendő össze a **mikózissal, amely a magasabb rendű élőlények mikroszkopikus gombák által okozott megbetegedése, fertőzése.**

3.3.6.2. A mikotoxinok képződésének feltételei

A gombafajok toxintermelő képessége genetikailag determinált tulajdonság; csak az ún. toxikogén gombák termelnek mikotoxint. A gombák toxintermelése függ a szubsztrátum sajátosságaitól, a közeg nedvességtartalmától, a pH-tól, a hőmérséklettől, a környezet páratartalmától, és a társmikroflórának is szerepe lehet a toxintermelésben. Általánosságban elmondható, hogy a szubsztrátum egyrészt biztosítja a tápanyagot a gomba elszaporodásához, másrészt speciális anyagai

révén közvetlenül is hathat a gombák mikotoxin-szintézisére. Bizonyos gombák csak a nekik optimális szubsztráton képesek elszaporodni és ezt követően toxint termelni. A gombák szaporodásához és növekedéséhez szükség van a 13% feletti nedvességtartalomra, a toxintermeléshez az optimális nedvességtartalom azonban ennél lényegesen nagyobb. A toxintermelés pH-optimuma az enyhén savas közegben van (pH=6 körül), míg a gombanövekedés egy tágabb pH-tartományban is lehetséges. A toxintermeléshez általában a 20 °C körüli hőmérséklet az optimális, míg a gombák szaporodása ennél lényegesen alacsonyabb és magasabb hőmérsékleten is végbemehet. Mind a gombanövekedéshez, mind a toxinképződéshez szükséges a 80% feletti páratartalom. A gomba elszaporodását és a toxinképződést befolyásolhatja a társmikroflóra is, hisz ennek jelenléte elnyomhatja az adott gomba szaporodását és toxintermelését.

3.3.6.3. *A mikotoxinok fizikai, kémiai és biológiai sajátosságai*

A szerkezeti különbségek következtében jelentős mértékű eltérések lehetnek a különböző vegyületcsoportba tartozó mikotoxinok között. Az F_2 -toxin pl. relatíve stabil a hővel szemben, a levegőben, a látható és az UV-fényben és a különböző oldószerekben. Az aflatoxinok viszont ezekkel a hatásokkal szemben érzékenyek, bomlékonyak. A mikotoxinok igen változatos kémiai reakciókba vihetők; stabilabbak gyengén savas közegben, míg lúgos közegben viszonylag könnyen bomlanak, és érzékenyek az oxidáló- és redukálószerekkel szemben is. Biológiai sajátságait, főbb károsító hatásaikat tekintve a mikotoxinok igen sokfélék lehetnek. Két példát kiemelve: az aflatoxinok májkárosító, daganatképző és teratogén hatásúak, a zearalenon pedig ösztrogén hatású, ezért szaporodásbiológiai károkat is okozhat. Ismerünk ezen túl fetotoxikus és mutagén hatású, ideg- és vesekárosító, vér- és bőrkárosító, valamint vérzéseket és szövetelhalást okozó mikotoxinokat is. Hazánkban heveny mikotoxikózissal nem, inkább csak azok krónikus hatásával számolhatunk. A mikotoxinok felvétele történhet a szájon és a bőrön át, valamint a levegőből. A szervezet próbálja lebontani, átalakítani őket, de az átalakulás nem jár minden esetben detoxikációval. Kiürülésük a szervezetből eredeti, illetve átalakult formában döntően a bélsárral és a vizelettel történik, de megjelenhetnek a verejtékben, a tojásban és a tejben is.

Magyarországon és Romániában az F_2 - és T_2 -toxin, a dezoxinivalenol, az ochratoxin A, az alternariol és az alternariol-monometiléter előfordulásával számolhatunk. Az alapanyagok közül főként a kukorica, valamint a búza és a zab a fő szubsztrátjai a mikotoxin-termelő gombáknak, de megemlíthető ezen kívül még az alma is, amely gyakran patulinnal szennyezett. Mikotoxinok képződhetnek a termelés, vagy még inkább a tárolás során, és a mikotoxinok képződésében fontos szerepet játszanak az égővi sajátosságok és az időjárási viszonyok is. Fenti indokok alapján feltétlenül szükséges az élelmiszerek mikotoxin-tartalmának meghatározása, hisz emberi ételmezésre mikotoxin-tartalmú élelmiszer nem

használható fel, valamint a mikotoxin-tartalmú takarmány felhasználása is csak igen korlátozottan lehetséges az állatok takarmányozása során.

3.3.6.4. A mikotoxinok meghatározása kémiai módszerekkel

A mikotoxikológiai vizsgálat magában foglalja egyrészt a mikológiai és a mikrobiológiai vizsgálatokat, másrészt a kémiai analíziseket, továbbá a biológiai és immunkémiai tesztek is. A vizsgálatok közül jelen fejezetben csak a kémiai analízisekre szorítkozunk.

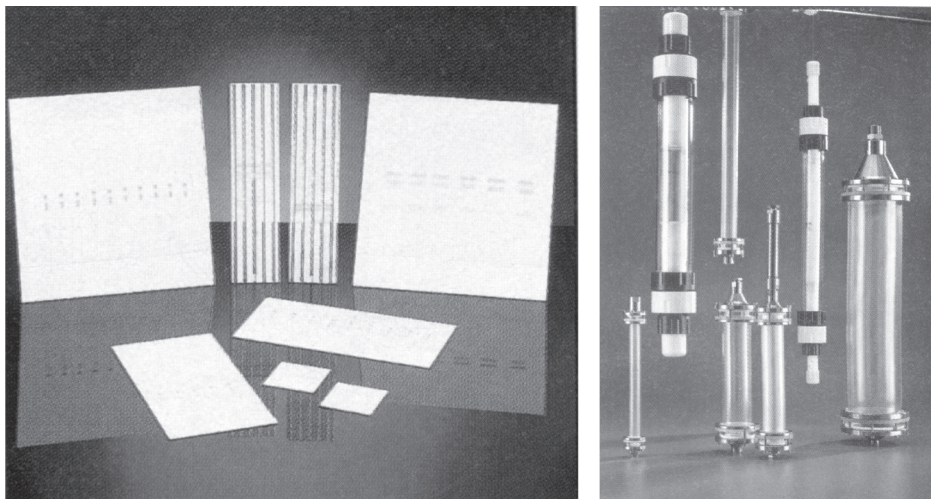
A mintavételi szabványok előírásai szerint vett átlagmintát szükség szerint maximum 50 °C-on kíméletesen szárítjuk, majd szilárd minták esetén őrléssel, szerv- és szövetminták esetén kvarchomokkal vagy vízmentes nátrium-szulfáttal történő eldörzsöléssel biztosítjuk a kellő homogenitást, míg a folyékony mintákat általában közvetlenül használjuk fel az analízisekhez. Ezt követően a vizsgálandó mikotoxinokat szerves oldószerek (etil-acetát, acetonitril, metanol, aceton) vagy szerves oldószer-víz elegyek használatával kivonjuk, amely kivonás történhet Soxhlet-extrakcióval, rázatással, gyors fordulatú homogenizátorral és ultrahang-fürdővel. A nyers toxintartalmú extraktumot szerves folyadék-folyadék extrakcióval, speciális szerves oldószer-lúgoldat extrakcióval, oszlop- és rétegekromatográfiával, illetve ezen eljárások kombinációjával tisztítani kell. A kimutatások és meghatározások standard mikotoxinok felhasználásával, rétegekromatográfiával vizuálisan (a mikotoxinok fluoreszcenciája, valamint vegyszerekkel láthatóvá tétele után), illetve denzitometriás értékelés alkalmazásával, gáz és folyadékkromatográfiás módszerekkel, továbbá ultraibolya- és infravörös spektrofotometriás, magmágneses rezonancia spektroszkópiás és tömegspektrometriás technikákkal, valamint ezek kombinációjával végezhető.

3.3.6.4.1. Az F₂-toxin-tartalom vizsgálata vékonyréteg-kromatográfiával

A vizsgálati mintát etil-acetáttal Soxhlet-készülékben extraháljuk, a nyers kivonatot hexán-acetonitril, majd speciális kloroform-lúg folyadék-folyadék extrakcióval tisztítjuk. A tisztított kivonatot kétdimenziós rétegekromatográfiás kifejlesztés után UV, illetve látható fényben vizsgáljuk, az F₂-toxin fluoreszcenciája, illetve színreakcióval láthatóvá tétele révén.

A mérés során a megfelelő szemcseméretűre megőrölt mintából 20 grammot Soxhlet-készülékben etil-acetáttal nyolc órán át extrahálunk, majd az extraktumot rotációs gyorsbepárlóval bepároljuk. A maradékot 50 cm³ hexánban feloldjuk, majd 50 cm³ és azután még 25 cm³ acetonitrillel kirázzuk. Az acetonitriles fázisokat bepároljuk, majd a maradékot 25 cm³ kloroformmal vesszük fel. Ezt kétszer 10 cm³, 1 térfogatnyi 0,2 mol/dm³ sósavoldattal tompított 10 térfogat 1 mol/dm³ nátrium-hidroxid-oldattal óvatosan kirázzuk. Az egyesített lúgos fázisok pH-ját 0,67 mol/dm³ koncentrációjú foszforsavoldat és 0,1 mol/dm³ nátrium-

hidroxid-oldat felhasználásával 9,5-re állítjuk be. Ezt követően $3 \times 15 \text{ cm}^3$ kloroformmal kirázzuk, majd az egyesített kloroformos fázisokat vízmentesítés után bepároljuk. A maradékot acetonnal kvantitativ speciális fiolákba vesszük át, a mintákat nitrogénáramban bepároljuk, és a maradékot $200 \mu\text{l}$ acetonban vesszük fel. Ezt megfelelően $100\text{--}100 \mu\text{l}$ -t használunk fel a réteg- és a gázkromatográfiás elemzésekhez. A 77. ábrán vékonyréteg-kromatográfiás lemezek és különböző méretű kromatográfiás oszlopok láthatók.



77. ábra. Vékonyréteg-kromatográfiás lemezek és különböző méretű kromatográfiás oszlopok

A rétegekromatográfiás elválasztást Kieselgel G készrétegre minta, standardok (a felhasználandó standard koncentrációja $0,1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) és minta + hozzáadott standard felvitele mellett kétdimenziós kifejlesztéssel végezzük. Az első irányban toluol-etilacetát-hangyasav = 6:3:1, a második irányban kloroform-aceton = 9:1 arányú elegyekkel végezzük a futtatást. Az értékelés UV fényben 254 és 365 nm-en közvetlenül, majd az 1%-os 4-metoxi-benzol-diazonium-fluoroborát-oldattal, valamint $0,1 \text{ mol}/\text{dm}^3$ nátrium-hidroxid-oldattal, továbbá $0,05 \text{ mol}/\text{dm}^3$ kénsavoldattal történő bepermetezés után látható fényben történik.

3.3.6.4.2. Az F_2 -toxin meghatározása gázkromatográfiával

Az előző fejezetben leírtak szerint kivont és tisztított F_2 -toxin-tartalmú anyagot szilil származékképzés után, töltetes gázkromatográfiás elválasztással, hőmérséklet-programozás mellett, lángionizációs detektálással analizáljuk. A módszer leírása egy korábbi fejezetben található.

3.3.7. Válogatott fejezetek

3.3.7.1. A szója és a szójatermékek tripszininhibitor-aktivitásának meghatározása

A módszer alkalmas a szója és a szójatermékek tripszininhibitor-aktivitásának meghatározására. A *tripszin* enzim a N- α -benzoil-DL-arginin-p-nitroanilid-hidroklorid (DL-BAPA) mesterséges szubsztrátból sárga színű p-nitro-anilin terméket hasít le. Tripszininhibitor jelenlétében kevesebb sárga színű vegyület keletkezik, így az enzimgátlás mértéke fotometriásan nyomon követhető. A tripszininhibitor az antinutritív növekedésgátló vagy -lassító, a táplálék értékesülését rontó anyagok közé tartozik. A proteázgátlás és ezen belül a **tripszingátlás** a növényvilágban igen elterjedt. A mintegy tízféle ismert proteázgátlás közül a tripszingátlás a leglényegesebb. Ennek lényege, hogy **a tripszin nem tudja a bázikus aminosavaknál a fehérjét támadni, mivel az inhibitor a tripszinhez sztöchiometrikusan kötődik**. Hatására a hasnyálmirigy hiperszekréciója indul meg, reverzibilis pankréasz hipertrófia alakul ki, a kéntartalmú aminosavak hozzáférhetőségének romlása miatt fokozódik az endogén-nitrogén-vesztés, látens metionin- és cisztinhiány lép fel. A fentiek miatt rendkívül fontos ismerni a szója és szójatermékek tripszininhibitor-aktivitását.

A vizsgálati eljárás során a zsíros mintát hideg eljárással zsírtalanítjuk, miközben zsírtartalmát is meghatározzuk. A lisztfinomságúra őrölt zsírtalanított mintából 2 g-ot analitikai mérlegen főzőpohárba mérünk, majd 70–80 cm³ desztillált vízben szuszpendálunk. A szuszpenzió pH-ját 1 mólos nátrium-hidroxiddal 9,5–9,8 közé állítjuk be, ezután 100 cm³-re kiegészítjük desztillált vízzel, majd az így kapott oldatot három órán keresztül mágneses keverőn kevertetjük. Az előkészített szuszpenzióból attól függően, hogy kezeletlen vagy kezelt szójáról van-e szó, különböző térfogatú bemérésekkel hígítási sorozatot készítünk. A hígítási sorozat tagjaiból azt az oldatot választjuk a tripszininhibitor aktivitásának meghatározására, amelynek abszorbanciaértéke a szójamintát nem tartalmazó oldat abszorbanciaértékének 40–60%-át adja. Az optimális hígítású oldatból száraz kémcsövekbe hígítási sorozatot készítünk 0,6; 1,0; 1,4 és 1,8 cm³-es bemérésekkel, majd a sorozat minden tagját desztillált vízzel 2 cm³-re egészítjük ki. Mindegyikhez hozzáadunk 2–2 cm³ tripszinoldatot és 5 percig 37 °C-on termosztáljuk. Ezt követően 5 cm³ DL-BAPA oldatot adunk hozzá, összerázzuk, 10 percig 37 °C-on termosztáljuk, majd 1 cm³ 30%-os ecetsavat hozzáadva a reakciókat leállítjuk. A mintákat ezután száraz kémcsövekbe szűrjük, majd 30 perc múlva 410 nm-en mérjük az abszorbanciaértékeket a reagens vakoldattal szemben. A vizsgálathoz szükséges reagens vakoldat csak a felhasznált vegyszereket tartalmazza minta nélkül, amelyre a spektrofotométert nullázzuk, szójaminta vakpróba, amely csak a szójamintát és a DL-BAPA reagenst tartalmazza, amelyre kapott abszorbanciaértékre a korrekciókat el kell végezni.

Az adott térfogatú szójaszuszpenziókat tartalmazó elegyek tripszininhibitor (a továbbiakban: TIU) értékeit az inhibitort nem tartalmazó ún. nullás oldat és az inhibitort tartalmazó szójaszuszpenzió elegyek értékeinek a különbségéből számítjuk ki. Az adott térfogathoz kiszámított TIU-értékeket 1 cm^3 szuszpenziónak megfelelő értékre számítjuk át, az így kapott értékeket (TIU/cm^3) az eredetileg bemért szuszpenzió cm^3 -einek függvényében ábrázoljuk (0,6; 1,0; 1,4; 1,8), és a TIU-értékeket összekötő egyenes és az Y-tengely metszéspontja adja az 1 cm^3 szójaszuszpenzió által előidézett gátló hatást TIU-egységben kifejezve. Az eredmény pontosabban számítható a lineáris regresszióval kapott egyenes egyenletéből ($y = a + b \cdot x$), amelyből $x = 0$ esetén az „a” érték adja az 1 cm^3 szójaszuszpenzió által előidézett gátló hatást. Az eredetileg bemért szójaminta mennyisége, a szójaszuszpenzió hígításának, valamint a vizsgált anyag olaj- és víztartalmának ismeretében a vizsgált anyag TIU-értékét 1 mg zsíros, légszáraz anyagra vonatkoztatva adjuk meg. A párhuzamos meghatározások eredményei között megengedett legnagyobb eltérés az eredmény 10%-a.

3.3.7.2. A szója ureázaktivitásának meghatározása

A módszer alkalmas szója és szójatermékek hőkezeltségi fokának megállapítására, mivel az *ureáz* enzim rendkívül érzékeny a hőkezelés hőfokára és időtartamára. A módszer szerint a meghatározandó szójadaramintákat karbamidot tartalmazó, valamint karbamidot nem tartalmazó $7,5 \text{ pH}$ -jú pufferoldatban szuszpendáljuk, és 30 percig 35°C -on tartjuk. A szójaszuszpenzióban lévő *ureáz* enzim a karbamidból ammóniát tesz szabaddá, ami megnöveli ennek az oldatnak a pH -ját. Meghatározva a karbamidot tartalmazó és a karbamidot nem tartalmazó szójaszuszpenzió pH -ját, a pH -különbség arányos lesz a szójában található *ureáz* enzim aktivitásával.

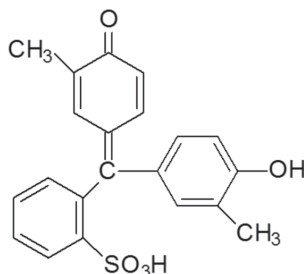
A vizsgálati eljárás során a lisztfinomságúra őrlött szójadarából $2 \times 1 \text{ gram}$ -mot mérünk be egy 100 cm^3 -es főzőpohárba. Az egyik mintához 50 cm^3 $7,5 \text{ pH}$ -jú foszfátpufferben oldott karbamidoldatot, a másikhoz csak foszfátpuffert adunk. A mintákat üvegbottal többször fölkeverjük, és az üvegbotot a főzőpohárban hagyva, azokat 30 percre 35°C -os termosztátba helyezzük, majd a mintákat ötpercenként felkeverjük. 30 perc után a mintákat szűrőpapíron szűrjük, és mindkét minta pH -értékét pH -mérőn, szobahőmérsékleten lemérjük. A szójadarára jellemző ureázaktivitás értéke a hőkezelés függvényében a következő:

	pH -érték-különbség
kezeletlen, nyers szója (toaszterezetlen)	1,7–2,5
részlegesen hőkezelt szója (részlegesen toaszterezett)	0,2–1,7
jól hőkezelt szója (jól toaszterezett)	0,0–0,2

3.3.7.3. A szója hőkezeltiségének megállapítása krezolvörös festékkötési próbával

A módszer alkalmas a szója hőkezeltiségi fokának megállapítására, mert a szójaminták és a krezolvörös közötti reakció intenzitása szoros kapcsolatban van a Maillard-reakcióban részt vevő vegyületekkel, a fehérjék szabad ε -aminocsoportot tartalmazó lizinjével és a redukáló cukrokkal. A nem redukáló cukrok glikozidos hidroxil-csoportjának aminolízise révén redukáló csoport alakulhat ki, és a Maillard-reakció termékei megkötik a krezolvörös festékeket. A festékmegkötés mértékéből a szója hőkezeltiségi fokára lehet következtetni. A krezolvörös (78. ábra) kémiai szerkezetét tekintve o-krezol-szulfoftalein, egy olyan festék, amely:

- pH = 1,2-ig **vörös**,
- pH = 2,8–7,4 között **sárga**,
- pH = 9,0 vagy fölötté **bíbor** színű.



78. ábra. Krezolvörös indikátor ($C_{22}H_{18}O_5S$), (o-krezol-szulfoftalein)

A vizsgálati eljárás során 400 mg mintát mérünk a 100 cm³-es Erlenmeyer-lombikba és 50 cm³ n-hexanollal hidegen extraháljuk. Rázás, dekantálás, majd a hexanosos fázis elöntése után 200 mg zsírtalanított mintát mérünk be a meghatározáshoz egy 100 cm³-es csiszolt dugós Erlenmeyer-lombikba. Hozzáadunk 10 cm³ frissen előállított krezolvörös reagenst, mely 1 rész alkoholos krezolvörös oldatból, valamint 9 rész 0,1 mólos sósavból áll. Egy órán át rázógépen rázatjuk, majd centrifugáljuk. Egy cm³ felülúszóhoz 10 cm³ 0,02 mólos nátrium-hidroxid-oldatot adunk, és 570 nm-en fotométerlünk. Mintavakot készítünk, mely a festék nélkül az összes többi reagenst tartalmazza, majd a fotométert a festék nélküli reagensre állítjuk be. Standardsorozatot készítünk, amely 0,25; 0,50 és 1,0 cm³ krezolvörös reagensből és 0,2 mólos nátrium-hidroxid-oldatból áll. Meghatározzuk a standardsorozat fényelnyelését 570 nm-en, az abszorbanciát ábrázoljuk a koncentráció függvényében, és a kapott hitelesítő egyenest használjuk fel az ismeretlen minta krezolvörös-tartalmának meghatározására.

Az eredményeket az 1 g szójaliszt által megkötött festék mg-jainak mennyiségében adjuk meg. Az 1 g liszt által megkötött krezolvörös mennyiségét a következő képlet alapján kapjuk meg:

$$x = (2,0 - 10 \cdot A) \cdot 2,5,$$

ahol: x = az 1 g szójaliszt által megkötött festék (mg),

A = az oldatban mért krezolvörös mennyisége.

A különböző módon hőkezelt szójaminták krezolvörös megkötése a következő:

	mg krezolvörös/g liszt
jól hőkezelt szója	3,8–4,3
nyers szója	2,0–3,0
alulkezelt szója	3,3–3,7
túlkezelt szója	4,3 felett

A zsírtalanított minta esetén az eredményt a zsírtartalommal korrigálni kell. Azonos mintából a két párhuzamos mérés között a megengedett eltérés az eredmény 10%-a.

3.3.8. Stabil izotópok alkalmazása az élelmiszerek hamisításának kimutatására

C₃ típusú fotoszintézisnél (fák, gabona, hüvelyesek, répa), amely leginkább a mérsékelt és a hideg égövön elterjedt növényekre jellemző, a szén-dioxidot először **három szénatomos szerves savakban** a (dihidroxi-aceton-foszfát és glicerinsav-3-foszfát) köti meg a folyamat kulcsenzime, a ribulóz-1,5-biszfoszfát-karboxiláz-oxigenáz (Rubisco). A **C₄-es típusú fotoszintézis során** (cukornád, kukorica) a szén-dioxidot először **négy szénatomos szerves savakban** kötik meg, majd a C₄ termékből a CO₂ felszabadul, és újra fixálódik a Rubisco segítségével. Ez a módszer meleg, jól megvilágított környezetben hatékonyabb a C₃ típusú fotoszintézisnél. A CAM típusú fotoszintetizálók szintén négy szénatomos karbonsavakban kötik meg először a szén-dioxidot, de itt a re-fixálás időben elválasztott, leginkább a meleg, száraz élőhelyek szukkulens növényeire jellemző folyamat (nappal C₃, éjjel C₄ típusú fotoszintézis).

Az élelmiszerek víztartalmának, illetve szervesanyag-tartalmának **stabil-izotópos összetétele kapcsolatban áll a fotoszintézis típusával** (¹²C, ¹³C, ¹³C/¹²C arány), illetve a földrajzi elhelyezkedéssel. Az izotópok aránya csak akkor bizonyító erejű, ha a levont következtetést más vizsgálatokkal is meg lehet erősíteni. Az **oxigén és a hidrogén izotópok arányát** fel lehet használni arra, hogy eldöntsük, eredeti gyümölcsleőről van-e szó, vagy pedig a gyümölcslevet sűrítményből a helyi ivóvízzel történő hígítással állították elő. Ilyenkor vizsgáljuk a deutériumot (D) és az 18-as oxigén izotópot (¹⁸O), mert **az eredeti gyümölcsle a nehezebb izotópokban dúsabb**, mint a helyi, hígításra használt víz. A megkülönböztetés alapja az a tény, hogy a **gyümölcs leve a nehezebb izotópokban feldúsul**, mert a növény a párologtatás során a könnyebb izotóp összetételű vizet nagyobb mértékben távolítja el a szervezetéből, mint a nehezebbet. Ezt a jelenséget párologási hatásnak hívják. Ha cukrot tesznek a narancslébe, megváltozik annak ¹³C/¹²C ará-

nya, amelynek alapján a hozzáadott cukor mennyisége meghatározható. E módszer részletes ismertetése a mézhamisításnál található.

A mesterséges, hozzáadott L-aszkorbinsav kimutatására is lehetőség van a stabil izotópok alapján. Az aszkorbinsavat (amely mesterségesen előállítva ugyanolyan jó, ugyanúgy hasznosul a szervezetben, mintha a növény maga állította volna elő) a C4-es asszimilációt folytató kukorica által létrehozott keményítőtől állítják elő, melyben a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ arány 10–14‰ körül van, míg ez az érték a természetes, gyümölcseredetű aszkorbinsav esetében 19–23‰ között mozog. Ha tehát az aszkorbinsavat pl. kromatográfiai eljárással el tudjuk választani az élelmiszer többi komponensétől, és meg tudjuk határozni a jelzett izotóparányokat, a C-vitaminnal történő kiegészítés és annak mennyisége deklarálható.

A stabil izotópos módszer **a bor vizezésének kimutatására is alkalmazható**, ugyanis a mustban lényegesen nagyobb a ^{18}O koncentrációja, mint a talajvízben, és értéke nem változik az erjedés során. A módszer alkalmazása során minden borvidéken, földrajzi helyen meghatározzák minden évjárat ^{18}O -tartalmát, a talajvíz ^{18}O -tartalmát, mely adatok segítségével, számítógépes adatbázis alkalmazásával, a bor vizezettsége kimutatható, a vizezés mennyisége meghatározható. A helyzetet bonyolítja, hogy a **bor ^{18}O -tartalma a szüret időtartamától is függhet**, mert a később szüretelt szőlőből készült bor ^{18}O -koncentrációja nagyobb a korán szüretelténél (de itt is vannak kivételek), ezért ezt a módszert nagy körültekintéssel kell alkalmazni.

Mivel az alkohol a borban lévő cukorból keletkezik, ezért a must cukrából keletkező alkohol és a maradék cukor $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ arányának meg kell egyeznie. Ha cukrot vagy más területről származó mustot tesznek a borba, akkor a **keletkező alkohol izotóparánya eltérhet az eredeti alkohol izotóparányától**. Ha a borban lévő alkohol ^{13}C -értéke eléri vagy meghaladja a 23‰-et, akkor a bort nem must eredetű cukorral hamisították. Az elmúlt években pl. jó minőségű, olcsó, Dél-Európából származó borokkal hamisították a német borokat, melynek tényét a stabilizotópos módszerekkel fel lehetett tártani.

Az **almaecetet is hamisítják** mesterségesen előállított, **olcsó ecetsav hozzáadásával**. Ha az ecetsavat a kukoricakeményítő fermentációjával állítják elő (C4 típusú fotoszintézist folytat), akkor a ^{13}C értékéből a hamisítást ki lehet mutatni. Ha C3-as növény a hamisítás alapja (gabonakeményítő, répa, burgonya), akkor ezen az alapon a hamisítás ténye nem állapítható meg, ekkor viszont elő lehet venni a **deutérium** mennyiségét, mely **a tömény ecetsav hígító vizében kisebb**, mint az eredeti almaecetében, és ennek alapján a hamisítás ténye kimutatható. A pontos eredmények kialakításához számítógépes adatbázisra van szükség.

A tej és a tojás származási helyét is meg lehet határozni a stabil ^{18}O izotópok alkalmazásával, ugyanis ezekben a termékekben az izotópok mennyisége és aránya a helyi talajvíz mintázatát követi, tehát **a talajvíz és a termék ^{18}O izotóp arányának segítségével a származási helyről kaphatók információk**. A stabil nitrogén (^{15}N) és szénizotópok (^{13}C) segítségével a kokain és a heroin származási

helye is beazonosítható, mely módszerekkel sikerült bizonyítani, hogy a kokain Bolíviából vagy Kolumbiából származik. Ugyancsak jól alkalmazható módszert dolgoztak ki az **ementáli sajt származási helyében meghatározására** a ^{13}C , a ^2H , a ^{15}N és a ^{87}Sr stabil izotópok alapján. E módszerrel az allgauti, bretagnei, a szavolyai, a finn és a svájci ementáli sajtokat egymástól nagy biztonsággal el tudták különíteni.

4. fejezet

Az élelmiszer-hamisításról általában

Amióta az emberiség elkezdett élelmiszereket termelni, az élelmiszer-termeléssel együtt **megjelent az élelmiszer-hamisítás**. Az élelmiszer-hamisítás legelső írásos emlékei az ókorból maradtak ránk, amikor is Hammurápi törvényei tiltották a gyenge minőségű vagy a túlzottan drága sörök árusítását, és aki ezeket a törvényeket megszegte, komoly büntetésre számíthatott; ez a tevékenység akár az életébe is kerülhetett. Írásos emlékeink vannak arról, hogy a **Római Birodalomban hamisították**, elsősorban vizezték a **bort**, amit ugyancsak szigorúan büntettek. Napjainkban a lelketlen kereskedők szinte mindent hamisítanak, ezért a hamisítással párhuzamosan kidolgoztak olyan eljárásokat, amelyek alkalmasak a hamis élelmiszerek kimutatására, a hamisítás tényéről adnak információt.

Az újabb korokban hamisították például a tejet, hisz annak a vizezése, a víz olcsó és könnyen elérhető volta miatt, egyszerűen megvalósítható. Angliában az 1800-as éveket megelőzően a tej kútvízzel történő hamisítása napi gyakorlat volt, ami csak akkor szorult vissza, amikor az 1800-as évek végén olyan kémiai módszereket dolgoztak ki, amelyekkel a tejhamisítást ki tudták mutatni. A tejhamisítás ma sem szünetel, hisz ismereteink szerint bizonyos országokban és vidékeken napi gyakorlat a vizezés elfedése só hozzáadásával, esetenként étolajat és detergenset adnak a tejhez zsírtartalmának megnövelésére.

Ugyancsak jelentős mennyiségben **hamisítják** a tejből készült és rendkívül **drága sajtokat**. Az első hamisításra az Egyesült Államokban az 1870-es években került sor, amikor rájöttek, hogy a jó minőségű wisconsini sajtokat olcsó zsírokkal, például disznózsírral hamisították, azok tömegének megnövelése céljából. Mióta a hamisítás ténye kiderült, az ilyen sajtok exportja visszaesett, elveszítettek jó hírnevet, melynek visszaszerzése hosszú évtizedeket vett igénybe. **A hamisítás ténye ma sem szűnt meg**, hisz a nagyon drága sajtokat ma is próbálják utánozni, holott ezek minősége meg sem közelíti az esetenként több évig érlelt, kiváló minőségű, éppen ezért keresett és nagyon drága sajtokat.

4.1. Hamisítják-e napjainkban az élelmiszereket?

A válasz egyértelműen igen, hisz szinte naponta, de inkább rendszeresen bukkannak fel élelmiszer-hamisításról hírek a médiában, gondoljunk csak a legutóbbi idők botrányaira, amikor a mézet nagy fruktóztartalmú kukoricakeményítő hidrolizátummal hamisították mindaddig, amíg ki nem dolgoztak módszert az

ilyen idegen anyag mézből való kimutatására. A borokkal kapcsolatban két hamisítási botrányra derült fény az utóbbi időben. Ausztriában **etilén-glikol tartalmú fagyállóval** akartak testesebb borokat előállítani, melynek következtében egy olyan anyagot vittek be az élelmiszerbe, mely a szervezetbe jutva súlyos mérgezést okozhat. A következmény az lett, hogy az európai szupermarketek polcairól eltűntek az osztrák borok.

Sajnos ugyanez a botrány megismétlődött Magyarországon is, amikor az Egri bikavért **glicerinnel próbálták feljavítani**, ami ugyan nem mérgező az emberi szervezetre, és a borban eredetileg is megtalálható, de egy megengedett túrérsi határon túl jelenléte már hamisításnak számít. Nagyon könnyen lehet hamisítani a különböző italféleségeket, melyeket rendszerint koncentrátumokból állítanak elő megfelelő mennyiségű vízzel hígítva. Mivel a koncentrátumok árát elsősorban a cukortartalom szabja meg, ezeket különböző cukrok hozzáadásával szokták hamisítani. A narancslében például a glükóz, szacharóz és a fruktóz aránya 1:2:1, ezért ezt az élelmiszert a cukorrépából kivont invertcukorral hamisítják, melyben a cukrok aránya ugyanaz, mint a narancslében. A cukor mellé a megfelelő sav-cukor arány fenntartása érdekében különféle szerves savakat is kevernek az élelmiszerekhez.

Természetesen a hamisítással párhuzamosan jelentős számban dolgoztak ki olyan módszereket, melyek a hamisítás tényét is ki tudják mutatni. Rájöttek ebben az esetben arra, hogy az invertcukor **triszacharidot** is tartalmaz, mely **az egyik jelzőanyaga a hamisításnak**. A savarány beállítására szolgáló almasav az ipari előállítás következtében DL-változatban kapható, míg a narancslében csak a természetes L-változat fordul elő. A szintetikus készítményekben a D:L aránya 1:1, ezért ha ilyen mesterséges almalevet kevernek a narancsléhez, a D-almasav jelenléte jelzi a hamisítást. A D sztereo-izomer almasavat pedig ma már mind enzimes módszerekkel, mind például nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával könnyen ki lehet mutatni.

Nagyon sok hasonló hamisítási eljárást lehetne ismertetni, de erre majd a könyv következő fejezeteiben kerül sor. Az előzőekből azonban látható, hogy a világon szinte minden élelmiszert hamisíthatnak, és köztük lehetnek olyan nagyobb, durva esetek is, amikor a hamisításra használt anyagok rendkívül módon veszélyesek az emberi szervezetre, sőt halálosak is lehetnek. Ilyen volt például a magyar paprika hamisítása ólomoxiddal, hogy annak színét kívánatosabbá tegyék, vagy a csecsemőtápszerek hamisítása Kínában melaminnal, amivel annak nyersfehérje-tartalmát tudták megnövelni, és amely több csecsemő halálát is okozta.

A könyv következő fejezeteiben ezekről a hamisításokról, illetve a hamisítások felfedezésére kidolgozott analitikai módszerekről lesz szó. A következő fejezetek első fele a hamisításokkal kapcsolatos jogszabályi háttért taglalja, a második részben pedig a leggyakrabban hamisított élelmiszereket, illetve a hamisítás technikáját írjuk le.

4.2. Az élelmiszer-hamisítás és annak jogi háttere

4.2.1. Mit jelent az élelmiszer-hamisítás?

– Hamis élelmiszernek minősül az, amelyet nem az előírásokban vagy a gyártmánylapban meghatározott minőségű előírásoknak megfelelően állítanak elő,

– amelyeket nem engedélyeztek, illetve nem nyilvántartott módon állítottak elő vagy hoztak forgalomba,

– amelyek előállításánál nem megengedett összetevőket használtak fel,

– amelyeket jogsértő módon átcímkezték vagy átcsomagoltak,

– amelyek minőség-megőrzési vagy fogyaszthatósági idejét jogellenesen meghosszabbították, vagy amelyeket egészben vagy részben lejárt minőség-megőrzési, illetve fogyaszthatósági idejű anyagokból állítottak elő,

– amelyek előállításánál nem emberi fogyasztásra szánt anyagokat használtak, illetve emberi fogyasztásra alkalmatlan élelmiszert emberi fogyasztás céljából hoztak forgalomba.

A hamis élelmiszer fogalmát az alábbi példákon talán még jobban meg lehet érteni. **Hamis az az élelmiszer, amelyet:**

– lejárt alapanyagokból állítottak elő,

– olcsó terméket a drágább termék csomagolásával és árával hoztak forgalomba (jó példa erre az, amikor a szójaolajat színezékekkel kezelve extra szűz olívaolajként értékesítik, vagy amikor az olcsó étolajat jó minőségű étolajként hozzák forgalomba),

– nem engedélyezett összetevőket használnak fel (nem engedélyezett színezékek, tartósítószer, édesítő anyagok),

– eredetvédett termékeket hamisítanak (például parmezán vagy feta sajként hoznak forgalomba más technológiával készült, hasonló termékeket, vagy hamisítják például a pármai sonkát más helyről származó húskészítménnyel),

– nem bioterméket biotermékként hoznak forgalomba,

– növényi zsírt tartalmazó tejtermékeket állítanak elő (a tejhez étolajat vagy margarint kevernek, és ilyen tejből magas zsírtartalmú sajtokat állítanak elő),

– növényi zsírt tartalmazó csokoládétermékeket állítanak elő; a kakaóvaját növényi zsírokkal pótolják,

– mesterséges műmézet állítanak elő cukorszirup, szerves savak, C-vitamin és különféle enzimek felhasználásával,

– a termék megnevezése nem felel meg a jogszabályokban foglaltaknak, vagy a termék közismert megnevezése mellett a jogszabályokban előírt és a fogyasztók által elvárt minőség nem jelenik meg a termékben (a 4 tojásosnak nevezett tészta nem tartalmaz tojást, a szalámi elnevezésű termék nem felel meg az ilyen termékre vonatkozó minőségi előírásoknak),

– a külföldről behozott termékek hazaiként történő árusítása (szezonális gyümölcsök, eper, cseresznye magyar termékként történő árusítása márciusban, áprilisban).

4.2.2. Hogyan lehet az élelmiszer-hamisítás ellen küzdeni?

Az **élelmiszer-hamisítás** minden korban és minden társadalomban **bűncselekménynek számított**. Magyarországon már 1896-ban törvény rendelkezett az élelmiszer-hamisításról. Napjainkban az élelmiszer-hamisítás nemzetközi mértékűvé vált, amely a gazdasági kártételén túl közvetlen egészségügyi és élelmiszerbiztonsági kockázatot jelent a fogyasztó számára. Magyarországon az illegális élelmiszer-hamisítás elleni küzdelem legfőbb szerve az **Élelmiszerlánc Felügyeleti Hatóság**, amely különféle társhatóságokkal együttműködve, meghatározott gyakorisággal, hatósági ellenőrzési terv alapján, fogyasztói bejelentések alapján, illetve gyanú esetén végez ellenőrzéseket.

Az illegális élelmiszer-hamisításokat az élelmiszer-előállítás és -forgalmazás teljes területén felügyelete alatt tartja, nyomkövetési vizsgálatok biztosítása révén próbálja elejét venni a hamisításoknak. Ezen vizsgálatok célja többek között az illegális tevékenységből származó jövedelmek felderítése, valamint a legális tevékenységet végző előállítók, forgalmazók, illetve fogyasztók érdekeinek védelme. A jogszabályi háttért ezen vizsgálatokhoz **Az élelmiszerláncról és hatósági felügyeletről szóló 2008. évi törvény** (nyilvános adatbázis az élelmiszerláncban történt jogsértésekről és a 3/2010. VM rendelet az élelmiszer-előállítással és -forgalmazással kapcsolatos adatszolgáltatásról és nyomon követhetőségről) adja.

4.2.3. Milyen hatósági intézkedéseket lehet tenni a hamisítás felderítése esetén?

Korlátozni vagy megtiltani lehet a forgalomba hozatalt, a behozatalt vagy a kivittet; a terméket a forgalomból ki lehet vonni, visszahívása, megsemmisítése vagy ártalmatlanítása megtörténhet; az élelmiszer-előállító tevékenység végzését meghatározott időre teljesen vagy részlegesen fel lehet függeszteni, korlátozni lehet, vagy a működést teljes mértékben be lehet tiltani; az újbóli működést szigorú feltételekhez lehet kötni, a létesítmények engedélyezését fel lehet függeszteni vagy vissza lehet vonni.

4.2.4. Milyen szankciókat lehet hozni az élelmiszer-hamisítás esetén?

A szankciók lehetnek élelmiszer-ellenőrzési bírság, élelmiszerlánc-felügyeleti bírság, eljárási bírság, illetve szabálysértési bírság. Élelmiszer-hamisítás esetén figyelmeztetés, szankció nem alkalmazható, a szankciónak szigorú erkölcsi és anyagi következménynek kell lenni.

Büntető eljárást kell indítani a következő esetekben:

- egyedi azonosító jel meghamisítása,
- egészségre ártalmas közfogyasztási cikkel való visszaélés,
- rossz minőségű termék forgalomba hozatala,

- hamis minőségi tanúsítvány kiállítása,
- az élelmiszer hamis megjelölése, a fogyasztók szándékos megtévesztése, az élelmiszer-vásárló megkárosítása.

A legutóbbi években Magyarországon az alábbi élelmiszer-hamisítási eseteket derítették ki:

- Tejporból növényi zsírt mutattak ki.
- A mézhez idegen cukrot keverték.
- Porcukorhoz édesítőszert adtak, rosszul tüntették fel a minőség-megőrzési időt.
- Baromfi húsból készült húskészítményeket hamisan címkéztek.
- Be nem jelentett módon gyártottak sütőipari termékeket, illetve állítottak elő ásványvizet.
- Engedély nélkül gyártottak nyerstejet, füstölt késztermékeket.
- Nem engedélyezett helyen való vágás után tiltott módon hoztak forgalomba közfogyasztásra élelmiszereket.

4.2.5. A hamisítás elleni országos szervezetek

A **Hamisítás Elleni Nemzeti Testület** 2008-ban a hamisítás elleni hatékony fellépés érdekében hozták létre. A hamisítás elleni küzdelemben javaslattevő, véleményező és tanácsadói feladatokkal felruházott szervezet, a szellemi tulajdonnal összefüggő feladat- és hatáskörrel rendelkező állami szervek, valamint a szellemi tulajdon védelmével érintett társadalmi és gazdasági érdekvédelmi szervezetek képviselőit fogja össze. **A testület legfontosabb feladata** a szellemi tulajdonjogok megsértésének és **a különféle hamisításoknak a kiszorítása**. A testület legfontosabb feladatai a következők:

- A hamisítás elleni nemzeti stratégia és a különféle intézkedési tervek kidolgozása, ezek végrehajtásának összehangolása.
- A hamisítás elleni nemzetközi, főként európai uniós kezdeményezésekkel kapcsolatos kormányzati tevékenység összehangolása és támogatása.
- A hamisításra vonatkozó statisztikai adatok rendszerezése és elemzése.
- A tudatosságnövelő, felvilágosító programok, kampányok kezdeményezése, összehangolása, végrehajtásuk figyelemmel kísérése.
- A hamisítás ellen fellépő rendészeti és igazságügyi szervek munkatársainak továbbképzése, javaslattevő a hamisítás elleni tevékenység jogszabályi hátterének megteremtésére és módosítására.

A testület célja összefoglalva az, hogy kezdeményezései a szellemi tulajdonjogok védelmének megerősítése révén előmozdítsák az innovációt és növeljék a kis- és középvállalkozások versenyképességét. Tevékenységük során csökkenhet a feketegazdaság aránya, nőhet a foglalkoztatás törvényessége és **a hamisításból származó illegális jövedelmek** gazdaságba történő visszaforgatása. Munkájuk biztosíthatja a fogyasztók fokozottabb védelmét, és elősegítheti, hogy a fogyasztók

egészségét veszélyeztető hamis termékek kiszoruljanak a piacról. A testület tagjai állami igazgatási szervek, köztük különféle minisztériumok és olyan nem állami igazgatású szervek, mint a Fogyasztóvédelmi Egyesületek Országos Szövetsége, a Magyar Iparvédelmi Szerzői Jogi Egyesület vagy a Magyar Márkaszövetség.

4.2.6. A hamisítás elleni nemzeti stratégia

Az előzőekben ismertetett Hamisítás Elleni Nemzeti Testület (HENT) felállításáról egy kormányhatározat döntött 2007-ben, és egy kormánybiztos elnökletével megalakult egy javaslattevő, véleményező és tanácsadói feladatokkal felruházott testület, melynek legfontosabb feladata **a feketegazdaság visszaszorítása, a szellemi tulajdonjogok megsértése elleni küzdelem, a szellemi tulajdonnal összefüggő feladat- és hatáskörrel rendelkező állami szervek, valamint a szellemi tulajdon védelmével érintett társadalmi és gazdasági érdekképviselői szervezetek képviselőinek összefogása.**

Egy 2008-as kormányhatározat a hamisítás elleni összehangolt fellépés érdekében **a hamisítás elleni nemzeti stratégia** kidolgozását tűzte ki feladatul. A HENT közreműködésével elkészült hamisítás elleni nemzeti stratégiát a kormány kormányhatározattal fogadta el. A stratégia bemutatja a hazai jogi és intézményi hátteret, a szellemi tulajdonjogok érvényesítésének helyzetét, helyzetképet ad a szellemi tulajdonjogok hazai jellemzőiről, a jogsértések hatásairól és a szellemi tulajdonjogok megsértése elleni nemzetközi fellépésről. **A stratégia meghatározza a hamisítások elleni fellépés fő szempontjait,** a cselekvési irányokat, az eszközrendszereket, a végrehajtás monitorozását és a hatékonyság vizsgálatát. A stratégia célja:

- a szellemi tulajdonjogok megsértésének mértéke számottevően csökkenjen,
- a jogsértések elleni fellépés hatékonyabbá váljon, eszközrendszere javuljon,
- a szellemi tulajdonjogok védelmének fontosságára és megsértésének következményeire vonatkozó tudatosság fokozódjék.

A stratégia három fő pillére a statisztika, a tudatosság növelése és a jogérvényesítés. A fő cselekvési irányba tartozik a hamisítással összefüggő jogsértésekre vonatkozó statisztikai adatok összegyűjtése, a statisztikai adatgyűjtés és értékelés módszertanának kidolgozása, egy mindenki számára hozzáférhető adatbázis összeállítása és a hamisítások gazdasági következményeinek, a hamisítás által okozott károk becsült értékének meghatározása, illetve az ezeket a szempontokat segítő eljárások kidolgozása. A hamisításokra vonatkozó statisztikai adatok rendszerbe foglalása biztosítja, hogy **a hamisítások hazai mértékéről és jellemzőiről valós és pontos, módszertanilag megalapozott helyzetkép készüljön.** Segítségnyújtást nyújthat ezen túl ahhoz, hogy hazánk eleget tegyen a szellemi tulajdonjogok érvényesítéséről szóló Európai Parlamenti és Tanácsi irányelvekben előírt (2004/48/EK) jelentéstételi kötelezettségeinek, és hogy felmérhesse **a hamisítások gazdaságra gyakorolt következményeit.**

A tudatosság növelése fő célkitűzése a hamisítás elleni és a jogérvényesítéssel kapcsolatos szemléletformáló intézkedéseknek, kezdeményezéseknek és végrehajtásnak. Ennek kapcsán biztosítani kell a hamisítás elleni küzdelemben részt vevő állami szervek munkatársainak célzott továbbképzését, és ki kell dolgozni a társadalom különböző célcsoportjai számára a hamisítás ellen szóló információs és oktatási programokat, valamint kampányokat.

A jogérvényesítés keretében az ezzel összefüggő jogszabályi környezet, a jogalkalmazás kérdéseinek, valamint a jogosultakat segítő intézkedéseknek és eszközöknek az áttekintése a cél, valamint a szükséges módosítások, új eszközök és intézkedések kezdeményezése valósul meg. A jogérvényesítés jogszabályi hátterének biztosítása mellett gondoskodni kell arról, hogy a hazai joggyakorlat is olyan irányban fejlődjön, amely a jogosultak érdekeinek minél hatékonyabb védelmét szolgálja. Olyan intézkedéseket kell kezdeményezni, amelyek a potenciális jogi lehetőségeken túlmenően ténylegesen lehetőséget adnak az arra jogosultnak, hogy **jogaiknak érvényt tudjanak szerezni a jogsértőkkel szemben**. Javítani kell a jogsértések elkerülését, megelőzését, felismerését, a jogérvényesítés elősegítését célzó eszközök, technológiák és szolgáltatások alkalmazhatóságának lehetőségét.

A hamisítás társadalmi-egészségügyi következményei, a hamisítási tevékenység intenzitása, valamint a hazai iparági érdekekre való figyelemmel az élelmiszeripar kiemelt figyelmet kap e stratégiában. **Az élelmiszeriparral kapcsolatban felmerült szükséges intézkedések a következők:**

- az élelmiszer-hamisítás területét érintő jogszabályok áttekintése a jogalkotó hatóságok gyakorlati tapasztalatai alapján,
- a hamisítások felderítéséhez szükséges eszközök fejlesztése,
- az élelmiszer-hamisítási adatokból naprakész, folyamatosan karbantartott, nyilvánosság számára hozzáférhető adatbázis kiépítése.
- a tudatosság növelése keretében az élelmiszer-hamisítás fogyasztóvédelmi vonatkozásait középpontba állító kommunikációs kampány kezdeményezése, egy jogsegélyszolgálat kialakítása, valamint a hatósági szakemberek képzése és oktatása.

A stratégia végrehajtása a stratégia mellékletét képező intézkedési terv útján valósul meg. Az intézkedési terv éves bontásban határozza meg a felelősöket, a felkért közreműködőket és a végrehajtáshoz szükséges forrásokat. A stratégiát a hosszú távú szemlélet, az átláthatóság és az ellenőrizhetőség alapelveit szem előtt tartva kell végrehajtani. A stratégia végrehajtásának ellenőrzése a HENT feladata, melynek során megállapítja a stratégia végrehajtásának és hatásának tapasztalatait, a végrehajtás során végbemenő nehézségeket. **A HENT évente ellenőrzi a stratégia végrehajtását és megvalósulását, megtárgyalja az élelmiszer-hamisítás hazai helyzetében bekövetkező változásokat.** A stratégiában foglalt intézkedési terv végrehajtásáról beszámol a kormánynak.

Melyek a stratégia végrehajtásának várható gazdasági, költségvetési, társadalmi, egészségi, környezeti és egyéb hatásai, illetve következményei?

- előmozdítja az innovációt és növeli a vállalkozások versenyképességét,
- ösztönzőleg hat a szellemi tulajdonjogi védelemre alkalmas műveket, műszaki alkotásokat létrehozó feltalálókra, csökkenti a feketegazdaság arányát, növeli a költségvetési bevételeket, megakadályozza a hamisításból származó illegális jövedelmek gazdaságba történő visszaforgatását,
- biztosítja a fogyasztó fokozottabb védelmét, elősegíti, hogy a fogyasztók egészségét is veszélyeztető hamis termékek kiszoruljanak a piacról,
- előmozdítja a működő tőke beáramlását,
- erősíti a befektetői bizalmat és hazánk kedvező nemzetközi megítélését a jogérvényesítés terén.

A 2011–2015 közötti időszakra vonatkozó hamisítás elleni akcióterv élelmiszerekre vonatkozó része az alábbi fő pontokat tartalmazza:

- az élelmiszer-hamisítás elleni hatósági beavatkozás hatékonyságát biztosító jogszabályi rendelkezések áttekintése, szükség esetén módosítása,
- a földrajzi árujelzés használatának ellenőrzésére vonatkozó joggyakorlat figyelemmel kísérése,
- az élelmiszer-hamisítás elleni küzdelemben hatáskörrel rendelkező hatóságok, egyéb érintett szakmai szervezetek közötti együttműködés és tapasztalatcsere előmozdítása, ennek érdekében szakmai rendezvények, konzultációk szervezése,
- lakossági felvilágosítás a közmédia és egyéb tájékoztatási formák segítségével, valamint az iskolai képzés útján,
- az élelmiszer-hamisítás fogalmának definiálása, a hozzá kapcsolódó szankcionálási rendszer létrehozása,
- a laboratóriumi vizsgálatokhoz szükséges eszközök fejlesztése.

4.2.7. Milyen előnyei várhatók az élelmiszer-hamisítás elleni fellépésnek?

A védjeggyel ellátott, illetve eredetvédett élelmiszereket hamisító, valamint a valótlán információval jelölt élelmiszerek forgalomba hozatala elleni hatékonyabb fellépés az eredeti jó minőséget garantáló termékek térnyerését segíti elő. A piac megtisztítása, elrettentő hatás kifejtése az elkövetőkre, a feketegazdaság kifehéritése és a fogyasztók megvédése a hamis veszélyes termékektől végső soron az élelmiszer-biztonság javulása.

4.2.8. Egy-két példa az élelmiszer-hamisítások témaköréből

A leggyakrabban hamisított élelmiszerek közé tartoznak az olívaolaj, a tej, a méz, a sáfrány, a narancslé, a kávé és az almalé. Ezeket az élelmiszereket hamisítják, azaz a bennük lévő **komponenseket szándékosan kicserélik, helyettesítik, hozzátesznek vagy elvesznek valamit az összetevőkből** anélkül, hogy azt a vásárlók tudo-

mására hoznák. A hamisítás oka minden esetben az anyagi haszonszerzés. A hamis összetevők gyakran ismeretlenek, ezért sokszor nagyon nehéz őket felfedezni.

A melamint egészen 2007-ig sem szennyezőanyagként, sem hamisításra használt anyagként nem tartották számon, mielőtt kutyatápokból kimutatták, illetve mielőtt 2008-ban csecsemőtápszerekbe és más tejkészítményekbe keverték volna. Utóbb kiderült, hogy a melamint már 1979 óta használták hamisításra a nagyobb fehérjetartalom elérése érdekében, ami egészen 2007-ig rejtve maradt. Nem gyanakodtak a melaminnal történő hamisításra, mert a melamin tesztelése nem volt része a rutin minőség-ellenőrzésnek. **Az élelmiszerek hamisítását jelző rendszert arra nem tervezhetik, hogy a gyakorlatilag végtelen számú lehetséges hamisító összetevőt kimutassa,** mert arra a világ analitikai kapacitása sem lenne elég. Az adalékanyagok azért jelentenek nagy kockázatot, mert sok élelmiszerben használják őket, nincsenek feltűnő tulajdonságaik, és semmiféle funkcionális tulajdonságuk sincs, amivel könnyen megkülönböztethetők lennének más összetevőktől.

A glicerín például, amellyel az utóbbi időben a magyar vörösborok egy részét próbálták feljavítani, édes, színtelen folyadék, nehezen különböztethető meg más hasonlóan édes, színtelen folyadékoktól, mint amilyen például a toxikus dietilén-glikol, amelyet korábban a glicerín helyettesítéseként ugyancsak hozzáadtak a vörösborhoz, ami halálos következménnyel járt. A csalás felderítése azért is nagyon nehéz, mert a csalások 95%-ában a hamisított anyagot egy kevésbé költséges, hasonló komponenssel cserélik fel, amelyet csak akkor lehet felderíteni, ha tudják, hogy mit keresnek. A helyettesítési csalásra példa az olívaolaj mogyoróolajjal való részbeni helyettesítése, vagy a gyenge minőségű pirospaprika részbeni helyettesítése ólom-tetraoxiddal vagy ólom-kromáttal.

A fentiek miatt célszerűbb egy élelmiszer esetében azt megnézni, hogy mi-nek kellene benne lenni és milyen mennyiségben, és nem azt, hogy minek nem lenne szabad benne lenni. Jobban véd az élelmiszer-hamisítások ellen, ha folyamatosan ellenőrizzük azokat a komponenseket, amelyeknek mindenképpen benne kell lenni a garantált, jó minőségű élelmiszerben. Egy jól megtervezett elemzés képes felderíteni mind az ismert, mind az ismeretlen hamisító összetevőit, ami nagy előny egy olyan környezetben, ahol nem lehet tudni, milyen veszélyes hamisítvánnyal fogunk találkozni a jövőben.

Hogy az élelmiszer-hamisítás mily mértékben elterjedt és milyen károkat okoz a Föld népességének, arra jó példa az Interpol és az Europol közös akciója, melyet 2012. december első hetében 29 ország hatósági szervei segítségével végeztek. A vizsgálatok eredményeként 135 tonna potenciálisan veszélyes, további 100 tonna megtevesztő és potenciálisan veszélyes élelmiszert foglaltak le. **A hamisítványok között megtalálható volt a kávé, a leveskocka, az olívaolaj, valamint a luxustermékek közül a kaviár is.** Az egy hétig tartó ellenőrzések során 385 000 liter hamis folyadékot, vodkát, bort, szójaszószt és narancslevet is találtak. Ezen túl emberi fogyasztásra alkalmatlan halak, húsok, valamint édességek

és fűszerek is előkerültek. A vizsgálatok eredményeképpen hangsúlyozták, hogy a hamis és kétes minőségű élelmiszereket és italokat minőségi előírások és higiéniai követelmények betartása nélkül gyártják, szállítják, tárolják és forgalmazzák. Ezek fogyasztása a vásárlókra nézve komoly egészségügyi kockázatot jelent, gyártásuk és terjesztésük viszont **rendkívül jövedelmező üzlet a hamisítók számára.**

2009. évi adatok szerint a világon évente mintegy 50 milliárd dollár értékű hamis élelmiszer kerül forgalomba, mely többségében tejpor, gyermektápszer, instant kávé, üdítő vagy alkoholtartalmú ital. Az alkoholtartalmú italokat különösen nagy arányban hamisítják a magas adók elkerülése és a nagyobb bevétel reményében. Összességében tehát a világon eladott hamisítványok kb. 10%-át teszik ki hamis élelmiszerek, de az élelmiszerárak emelkedésével párhuzamosan ez az arány valószínűleg növekedni fog. A hamis ételek és italok fogyasztása komoly egészségügyi kockázattal jár, mely nem egy esetben halálos is lehet. Ha a csecsemőket például felvizezett tápszerrel etetik, alultápláltak lesznek és meg is halhatnak, ha az étel nem ellenőrzött helyről származó összetevőket tartalmaz, akkor veszélyes mérgeanyagok juthatnak a szervezetbe.

A hamisítótak nem érdekli és esetenként nincsenek is tisztában azzal, hogy milyen következményekkel járhat a termékeik elfogyasztása, **egyedüli céljuk a minél nagyobb profit elérése.** Az összes élelmiszert természetesen nem lehet ellenőrizni, hisz arra nincs élelmiszer-analitikai kapacitás. Az Egyesült Államokba például évente mintegy 10 millió élelmiszer-készítmény érkezik, de ennek csak 1%-át ellenőrzik, és csak 0,3%-ából vesznek mintát. Az importált élelmiszerek mennyisége olyan óriási, hogy ennél többet még egy ilyen gazdag ország sem képes ellenőrizni, ezért főként a nagyobb kockázatot jelentő tényezőkre koncentrálnak. Olyan rendszert szeretnének kidolgozni, amellyel könnyen **ki lehetne szűrni a legnagyobb kockázatot jelentő szállítmányokat.**

A legutóbbi időkben a szeszesitalokkal kapcsolatos hamisítások döbbsentették meg a közvéleményt. 2008-ban Angliában olyan **hamis vodka** került forgalomba, melynek rendkívül magas volt a metanoltartalma, amely már maradandó vakságot is okozhatott. A forgalomba hozott szeszesital címkéje jól utánozta az eredeti, jó minőségű vodkát, tehát megtévesztve a fogyasztót, a hamisítvány felbontása után viszont kellemetlen, vegyszer jellegű szagot lehetett érezni, ami jelezte, hogy nincs minden rendben. Hasonló jellegű mérgezésről számoltak be Oroszországban, ahol 2006-ban szükségállapotot vezettek be Szibéria körzetében a hamis vodka okozta tömeges mérgezések miatt.

2008-ban Indiában több mint 60 ember halálát okozta hamisított ital fogyasztása, és a magyar hatóságok is gyakorta foglalkoznak le zárjegy nélkül árusított szeszesitalokkal, és fedeztek fel korábban illegális szeszfőzdeket. 2007-ben hazánkban 600 ezer liter ablakmosó folyadékból csaknem 2 millió liter szeszesített állítottak elő. 2008-ban pedig 1200 liter engedély nélkül előállított alkoholt találtak a vámósok, több, engedély nélkül üzemelő szeszüzemre bukkantak, és egy családi házban az illegálisan üzemeltetett pálinkafőző is felrobbant.

4.2.9. Büntethető-e a hamisítás?

A Büntető Törvénykönyv 1978. évi IV. törvénye szabályozza a szellemi tulajdonjogok megsértésével (hamisítással) kapcsolatos büntetőjogi tényállásokat. Megállapítja, hogy **a hamisítás bűncselekmény**, elkövetése szabadságvesztés büntetésének kiszabását eredményezheti. A 2013. július elsején hatályba lépett új Büntető Törvénykönyv különösen szigorúan bünteti a hamisítást és az üzletszerűen elkövetett, más szellemi tulajdonjogi jogsértéseket.

5. fejezet

Speciális élelmiszer-hamisítási esetek és a hamisítások kimutatása

5.1. Tej és tejtermék hamisítása

A jó minőségű tej és tejtermék mentes a szennyeződésektől, az antibiotikumoktól, a kellemetlen szagtól és íztől, a patogén mikroorganizmusoktól, szomatikus sejtszáma és összcsíraszám alacsony, **nem tettek hozzá vizet, nem vettek el belőle zsírt, semmiféle egyéb anyagot nem keverték hozzá**, jó az illata és a tejre jellemző íze van, és összetétele megfelel a normális tej összetételének. A tejnél a bakteriológiai állapotra, a tejtermékeknél pedig inkább az íz- és aromaanyagokra kell legjobban odafigyelni.

Hamisításnak számít, **ha a nagyobb haszon elérése érdekében a tejhez bármit, elsősorban vizet hozzátesznek, vagy belőle bármit, elsősorban zsírt elvesznek**. Legtöbbször vizet vagy fölözött tejet adnak a tejhez, és elvonják eredeti zsírtartalmának jelentős részét, melyet sűrűségméréssel, fagyáspont-ellenőrzéssel vagy a zsírtartalom meghatározásával lehet ellenőrizni. A piszkos víz, a mosószer, a növényi sejtek, a szőr, a háztartási por és piszok, az állati vizelet és bélsár szemmel is jól látható, szagolható és taszító szennyezői a tejnek. Az egyéb, szemmel nem látható és orral nem érzékelhető hamisítások kiderítése javítja a kereskedelmi tej és tejtermékek minőségét, ezért ezen módszerek ismerete fontos mind a vásárlók, mind a minőség-ellenőrzéssel foglalkozók számára. Több országban olyan pontrendszert vezettek be, mely **bünteti a tej minőségét rontó tényezőket**, és kisebb jövedelemhez juttatja a nem megfelelő tejet termelő farmereket. Különösen nagy figyelmet fordítanak a tej antibiotikumokkal, radioaktív anyagokkal, klórozott szénhidrogénnel és nehézfémekkel való szennyezésére.

5.1.1. A különféle állatfajtáktól származó tejek és azok hamisítása

A tehéntej és a bivalytej, a tehén és a kecske-, valamint a juhtej elegyítése, akár hamisítás céljából, az egész világon előfordul. Különösen a kecsketejet használják előszeretettel a tehéntej hamisítására, bár nagyon sokszor előfordul az egyébként kiváló minőségű kecsketej vízzel vagy tehéntejjel történő hamisítása a nagyobb haszon elérése céljából. Amennyiben a **kecsketejet tehéntejjel hamisítják**, annak tápértéke nem változik meg, sőt amennyiben a hozzáadott tehéntej mennyisége a 15%-ot nem haladja meg, a **kimutatása is nagyon nehéz**. Ez a helyzet különösen

a sajt előállításánál okoz problémát, mert a különböző tejfélések más aromát és ízt kölcsönöznek a sajtnak, sőt **az idegen faj teje allergiás reakciót is kiválthat** a fogyasztó szervezetében.

Több módszert is kidolgoztak az ilyen típusú hamisítás leleplezésére. **Immunológiai és nem immunológiai gélelektroforézist** alkalmaztak a különböző fajok tejeinek egymástól való elkülönítésére, és különösen az izoelektromos fókuszálást tudták jó hatásokkal alkalmazni a fehérjékre, a gázkromatográfiát és a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát pedig a kezeino-makropeptidekre és a zsírsavakra. A kémiai összetétele és az UV spektruma is más az ilyen tejeknek, ami ugyancsak lehetőséget ad az azonosításra. **A tehéntej és a kecsketej eltérő zsírsavösszetétele**, a zsírsavakból számolt indexek különbözősége ugyancsak lehetőséget ad az azonosításra.

Különösen alkalmasak erre a rövid szénláncú zsírsavak, illetve az azok koncentrációjából számolt indexek, és a gázkromatográfiás analízis azt is bizonyította, hogy a kecske- és juhtejből készült sajtok más rövid szénláncú zsírsavmintával jellemezhetők, mint a tehéntej, ezért ennek alapján a sajtok megkülönböztethetők egymástól. A laurinsav : kaprinsav arány a tehéntejből készült sajtban átlagosan 1,16, míg a kecskesajtban 0,46, a juhsajtban pedig 0,58. Ez az arány alkalmas arra, hogy információt adjon a **kecske- és juhsajtban lévő tehéntej mennyiségéről**. A tehéntej kecsketejhez történő keverését a β -karotintartalom alapján is ki lehet mutatni, ugyanis a kecsketejben ez a vegyület nem található meg. 20% kecsketej tehéntejhez történő keverése az UV spektrum alapján is kimutatható.

Enzimatiszus módszereket is kidolgoztak a juhtejhez kevert tehéntej kimutatására, a tehéntej lényegesen nagyobb riboflavin-tartalma és xantin-oxidáz-aktivitása alapján, mely szerint 2% tehéntej a juhtejben már kimutatható ezzel a módszerrel. A módszer hibája, hogy mivel a hőkezelés az enzimaktivitást tönkreteszi, nem alkalmazható hőkezelt tejek esetében.

A juh-, a kecske- és a tehéntej ásványianyag-tartalma viszonylag állandó, de a különböző elemek aránya a különböző tejekben nagyon is eltérő. Az ásványi anyagok mennyiségét befolyásolja még a technológiai is, amikor például különféle sajtokat készítenek a tejekből, ennek ellenére határozott különbségek vannak a különböző tejekből készült sajtok között. A kalcium és a magnézium aránya pl. a tehéntejben 23,3, a juhtejben pedig 17,2, ami alapján a két tejből készült tejtermék egymástól megkülönböztethető. Különbségeket találtak a három faj között például tejük K/Mg, Na/Ca, Cu/Zn és Cu/Na arányában, és multivariációs analízissel a nyomelemeket (Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd és Pb) a különböző fajok tejének egymástól való elkülönítésére tudták használni.

A különböző fajok tejből készült sajtokat el tudták különíteni pl. elektroforézissel, a **különböző kazeinfrakciók** (elsősorban a κ -kazein) **eltérő mozgékony-sága alapján**, és hasznosnak bizonyultak ebben az esetben a savófehérje-frakciók is. Mivel a tehéntej α -kazein és β -laktoglobulin frakcióinak mozgékony-sága lényegesen nagyobb, mint a kecsketejéé, ezek a frakciók is alkalmasak a hamisítás

kimutatására. A tehéntej α_s -kazein frakciója alapján 5–10% tehéntej kecsketejhez keverése kimutatható, és ugyanez elmondható a **β -laktoglobulin frakcióra** is. Sajt esetében a α -kazein frakció lényegesen érzékenyebb, mint a β -laktoglobulin, mivel ez egyrészt távozik a sajtkészítés során, ezért koncentrációja alacsony, másrészt hajlamos a kicsapódásra, ami ugyancsak csökkenti mennyiségét. Az **α -kazeinnel** kapcsolatos vizsgálatok azon a feltételezésen alapulnak, hogy koncentrációja viszonylag állandó a tehéntejben, bár egyes vizsgálatok szerint nagyok lehetnek az egyedi eltérések, amelyek a koagulációt is befolyásolják, ami nehezzé teszi 5%-nál kevesebb tehéntej kimutatását a kecskesajtból.

A sajtok karbamidos extrakcióját követő izoelektromos fókuszálás a **para- κ -kazeintartalom alapján** a tehéntej mennyiségének nagyon pontos meghatározását teszi lehetővé kecske- és juhsajtokból. Ezzel a módszerrel, denzitometriás kiértékelést alkalmazva, 1–2% tehéntej a juhtejből és a juhsajtokból kimutatható.

A **nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC)** szintén alkalmas a kecske- vagy juhtejhez kevert minimum 2% tehéntej kimutatására és mennyiségi meghatározására. **Immunodiffúziós módszerekkel és immunelektroforézissel** is ki lehet mutatni legalább 2,5% tehéntejet a juh- és kecsketejből. Ezek a módszerek alkalmasak a sajt tehéntejből származó arányának a meghatározására is, amennyiben az legalább a 10%-ot eléri. A radiális immunodiffúziót is alkalmazták a tehéntej juh- és kecsketejből történő kimutatására, ez a technika azonban nem terjedt el a gyakorlatban. A rakéta-immunoelektroforézissel ugyancsak jó hatásfokkal mutatható ki a tehéntej a másik két faj tejéből, mert a keresztreakció az antitest és a kecsketej között kizárt, és ezzel a módszerrel 1–5% tehéntej kecsketejhez történő keverése kimutatható. A módszer mind a hőkezelt, mind a homogénezett, mind a nyerstej esetében alkalmazható.

Az ELISA-módszert is jó hatékonysággal alkalmazták a tehéntej juhtejből, illetve juhsajtból történő kimutatására, bár a kíméletesen és az ultramagas hőmérsékleten pasztörözött tej, valamint a sterilizett tej gyengébb immunválaszt ad a valószínű precipitáció miatt.

A módszereket összehasonlítva megállapítható, hogy az elektroforézis, különösen a **poliakrilamid-gélelektroforézis (PAGE)** pontosabb és megbízhatóbb eredményeket ad, mint akár az immunelektroforézis, akár a radiális immunodiffúzió. Az elektroforézissel az 5% kecsketej juhtejhez történő keverése nagy biztonsággal kimutatható.

5.1.1.1. A bivalytej tehéntejjel történő hamisítása

Alacsony ára miatt a vízibivaly tejét a tipikusan olasz sajt, a mozzarella előállításánál gyakran hamisítják tehéntejjel. Az elektroforetikus mobilitás alapján az elektroforézist előszeretettel alkalmazzák a bivalytejhez kevert tehéntej kimutatására. Erre leginkább az α - és β -kazein alkalmas, hisz ezek mozgékonyasága tér el leginkább egymástól. A kazeinfrakciók közül is az α_s -kazein adta a legjobb

eredményt mind a poliakrilamid-gél, mind az agarózgél elektroforézisnél. Minden kazeinfrakciónak megvan a megfelelő párja a tehéntejben és a bivalytejben is, melyek **izoelektromos fókuszálással** (IEF) egymástól szétválaszthatók.

Próbálkoztak a proteolitikus enzimek alkalmazásával, és azt követően a frakciók szétválasztásával is a két tej megkülönböztetésére. A kapott frakciók elektroforetikus mozgékonyága különböző volt, ami ugyancsak jól hasznosítható a tehéntej bivalytejből történő kimutatására. Kísérletek történtek a γ_2 és a γ_3 kazeinfrakció elemzésére plazminadagolás után, PAGE és IEF alkalmazásával, mely módszer alkalmasnak bizonyult 1% mennyiségű tej kimutatására a másik fajéból. A módszer nemcsak a kimutatásra, de a mennyiségi meghatározásra is alkalmas a nevezett kazeinfrakciók alkalmazásával.

Próbálkoztak az elektromos vezetőképesség alkalmazásával is, mely azon az elven alapul, hogy a bivalytej elektromos vezetőképessége a tehéntej hozzáadásával arányosan nő. Próbálkoztak a zsír zsírsavösszetételének meghatározásával azon az alapon, hogy a bivalytej tejzsírjának palmitinsav- és olajsavtartalma a folyékony fázisban szignifikánsan nőtt a tehéntej hozzáadásának hatására. E két zsírsav rendkívül érzékenyen reagál a tehéntejjel történő elegyítésre, és segítségükkel 5% tehéntej bivalytejhez keverése nagy biztonsággal kimutatható. Mivel a zsírsavösszetételt befolyásolja az évszak, a régió és az állatok takarmánya is, javasolható, hogy minden környezetben végezzék el az összehasonlítást a két faj zsírjának összetételét illetően, és a helyi sajátságoknak megfelelő becslőrendszert hozzanak létre a tehéntej részarányának meghatározására.

Kidolgoztak módszert a bivaly kazeinmicellák által nyúlban termelt ellenanyag segítségével és a karotintartalom alapján is, minek az az alapja, hogy a bivalytej karotintartalma lényegesen kisebb a tehéntejénél. A bivalytej több lakténint és kevesebb agglutininint tartalmaz, mint a tehéntej, ami ugyancsak a megkülönböztetés alapja lehet.

A különféle fajok teje a különféle illó komponensek alapján is megkülönböztethető egymástól. A dimetilszulfon pl. a tehén-, a kecske- és a juhtejben az összes illó komponens 25%-át teszi ki, míg ez az arány a bivalytejben csak 4%, ami ugyancsak a megkülönböztetés alapja lehet. A 3-metil-butanal csak a bivalytejben található, a fenilacetaldehid és a benzaldehid nagy koncentrációban található meg a kecsketejben, míg a 2-metilketonok és az 1-oktén-3-ol a bivalytejben található meg nagyobb koncentrációban, a feniletanol pedig, ami a juh- és kecsketejben egyáltalán nem található meg, százszor nagyobb koncentrációban található a bivalytejben, mint a tehéntejben. A fentiek mind egy potenciális analitikai módszer alapját jelenthetik.

5.1.1.2. Az anyatej hamisítása egyéb tejekkel

A **polyhesedési teszt** során a kalcium-acetát megfelelő koncentrációjú oldata a kazeinfehérjéket 37 °C-on, a savófehérjéket pedig 60 °C-on csapja ki, de nem

reagál a humán kolosztrummal. Ha pelyhek csapódnak ki az anyatejből, akkor az tehéntejet is tartalmaz. Az anyatejhez kevert tehéntejet telített réz-szulfát-oldattal és 0,4% kadmium-szulfát-oldattal is ki lehet mutatni, melynek során tehéntej jelenlétében csapadék válik ki. Az anyatej vizezését a **fagyáspont-növekedés alapján** lehet kimutatni, de nagyon óvatosan kell bánni ezzel a módszerrel, mert a fagyáspont személyről személyre, sőt ugyanannál az anyánál is változhat.

Az anyatejhez kevert tehéntejet viszonylag könnyű kimutatni az anyatej, illetve a tehéntej **fehérjefrakcióinak tulajdonságaiban fennálló különbségek alapján**. Mivel a **β -laktoglobulin az anyatejben nem fordul elő**, annak jelenléte az anyatejben egyértelműen a hamisításra utal. Alkalmas a hamisítás bizonyítására a savófehérje-frakcióban található α -laktalbumin és a kazeinfrakcióban található κ -kazein is. Ezeknek a fehérjefrakcióknak a segítségével 1% tehéntej anyatejhez keverése kimutatható. Az alkalmazott módszer a PAGE és az IEF.

Az **anyatej szabadaminosav- és taurintartalma lényegesen nagyobb**, mint a tehéntejé. Míg az anyatej taurintartalma $33,5 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$, addig a tehéntejé csak $1,9 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$, a glutaminsav esetében pedig $262,7 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ és $28,8 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$. Ezek az értékek is lehetőséget adnak az anyatejhez kevert tehéntej kimutatására, hisz az mind a taurin, mind a szabad glutaminsav mennyiségét jelentős mértékben csökkenti. Mind a taurint, mind a szabad glutaminsavat meg lehet határozni ioncserés oszlopkromatográfiával oszlop utáni ninhidrinnel való származékképzéssel vagy nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával oszlop előtti származékképzéssel.

5.1.2. Szójatej a tehéntejben

Az utóbbi időben a szójatej és a szójafehérje nagy figyelmet kapott mind gazdasági, mind táplálkozási szempontból. Ez különösen igaz a fejlődő országokra, ahol hiány van jó minőségű állati eredeti fehérjéből, melynek helyettesítésére, annak kiváltására vagy kiegészítésére a szójafehérje kiválóan alkalmazható. Ezen túl a **szójatej és a belőle készült tejtermékszerű anyagok ideális tápanyagok a vegetáriánusoknak és a tejfehérje-allergiában szenvedőknek**. Nehéz olyan analitikai módszert találni, mellyel a tejhez kevert szójafehérje kimutatható lenne, mert 10–20% szójatej tejhez történő keverése nem változtatta meg sem a joghurt, sem a sajt organoleptikus tulajdonságait. 20% szójatej-hozzáadás nem változtatta meg az alvadási időt, ennél több esetben azonban már hosszabb alvadási idővel kell számolni.

A szerkezetben lévő hasonlóságok sajátos probléma elé állítják az analitikusokat, amikor szójafehérjét kell kimutatni egy tejtermékből. Több módszert is kidolgoztak erre a célra: a nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézist (SDS-PAGE), a szerológiai módszereket és a peptidanalízist. Ezek az analízisek mind a szójatej és a tehéntej fehérjetartalmában fennálló különbségeken alapulnak. A PAGE-val, 8,6-os pH-jú tris puffer alkalmazásával a tehéntejből hat, a szójaból pedig kilenc frakciót lehet elkülöníteni. A szója globulinfrakcióinak elektro-

foretikus mozgékonyasága nagyobb, mint a vonatkozó tejfehérjéé, a κ -kazeiné, de kisebb, mint a γ -kazeiné. Ezzel a módszerrel 2% szójatej tehéntejhez történő keverése kimutatható. Ezen módszereken túl a PAGE, az SDS-PAGE és a HPLC is jól használható a szójafehérje kimutatására, mely módszerek segítségével 5%-os szójatej-hozzáadás nagy biztonsággal kimutatható és a mennyisége meghatározható.

Értékelve a HPLC-analízis során kapott csúcsokat, hitelesítő egyenes segítségével, 1%-nál több szójatej a tehéntejben nagy biztonsággal kimutatható. Ezen módszerek hátránya, hogy drágák, képzett személyzetet és drága műszereket igényelnek, ezzel szemben az ELISA-módszerek lényegesen olcsóbbak, és velük is lehetséges 1%-nál több szójatej kimutatása. A szójatej mellett ezekkel a módszerekkel a tejhez kevert kókusztej is kimutatható.

5.1.3. A savó és az író kimutatása a tejből

A megnövekedett sajtfogasztás következtében megnőtt a savó mennyisége, melynek elhelyezése és felhasználása gondot okoz. A savóból készült savópor lényegesen olcsóbb a sovány tejpornál, de felhasználásának, a magas tejcukortartalom miatt, korlátai vannak. A sovány tejpork, az előírások szerint, csak fölözött tejből készülhet, és nem tartalmazhat savóból vagy íróból származó szárazanyagot, és oltó enzim sem lehet benne. A világon sok helyen az édes tejszínből készült vaj gyártása után visszamaradt **írórt por formájában a sovány tejporkhoz keverik**, amelynek kimutatására több módszert is kidolgoztak. A hamisítás tényét nyomon lehet követni a savófehérje frakció mennyisége, a tejsav mennyisége alapján, mely pozitív, ha meghaladja a 150 mg/100g-ot, és a hamutartalom alapján, mely pozitív, ha több mint 8%.

Az írópor kimutatására fel lehet még használni az elektronmikroszkópot, mert a részecskék felülete eltérő, ha sovány tejből vagy íróból készül a por. Fel lehet még használni a savas kicsapódási tesztet, melynek során a kazeinmicellák, a savófehérjék és az íróban lévő nagy mennyiségű zsírgolyócskamembránok eltérő módon viselkednek.

A pasztörözött tej hamisítása is nagy problémát jelent a különböző országokban. Mivel a savó ára alacsony, organoleptikus tulajdonságai nem térnek el jelentősen a tejétől, egyértelmű, hogy a tej hamisításával jelentős gazdasági haszonra lehet szert tenni. A savó mennyiségét a tejben ki lehet mutatni a kazein-savófehérje arány alapján. A kazeint meg lehet határozni annak 4,6-es pH-n történő kicsapása után, ami utána visszamarad, az a savófehérje. A kazeintartalom és a foszfortartalom nagyon szoros összefüggésben van egymással, mert csak a kazein képes a foszfátot észterkötéssel megkötni, így a foszfortartalomból a kazeintartalomra, abból pedig a tej savóval való hamisítására lehet következtetni.

5.1.4. Savófehérje a tejtermékekben

Nagyon fontos annak ismerete, hogy a különféle tejtermékek mennyi tejszárazanyagot, és ebben mennyi teljes tejport tartalmaznak. A fagyasztott tejtermékeknek legalább 10%-ban zsírt és 20%-ban szárazanyagot kellene tartalmazniuk, és tudni kellene azt is, hogy mennyi benne a savófehérje és a kazein aránya. A festékkötéses módszerek alkalmasak ugyan például jégkrémek fehérjetartalmának meghatározására, de némiképp más eredményt adnak, mint a hagyományos Kjeldahl-módszer. Nagyon nehéz különválasztani a kazeint a savófehérjétől, mert a különféle hőkezelési eljárásokat követően együtt csapódnak ki, gyakorlatilag elválaszthatatlanok.

Ahhoz, hogy ezt a két fehérjét meg lehessen határozni, a komplexet szét kell ronszolni, vagy valami egyéb megoldást, például a foszfortartalom alapján való becslést kell alkalmazni. Mivel a foszfor csak a kazeinhez kötődik, a **foszfor/nitrogén arány alapján a kazein mennyisége**, még egy olyan összetett mátrixban is, mint a jégkrém, **becsülhető**. Alkalmazható ezen túl még a radiális immunodiffúzió a kazein és savófehérje mennyiségének becslésére. A kazein mennyiségének meghatározása a foszfortartalom alapján jól használható a nátrium-kazeinát és feldolgozott tejtermékek esetében is. A savópor, írópor vagy kazeinát hozzáadása a főlözött tejhez a cisztein-cisztin (-S-S-) komplex, valamint a szialinsav alapján mutatható ki. **A cisztein- és a cisztintartalom egy módosított ninhidrin reakció alapján vagy ioncserés oszlopkromatográfiával mérhető**. Az SH-csoportok mennyisége a normál sovány tejporban $86,4 \mu\text{g/g}$ fehérje, amely savó vagy savófehérje hozzáadására lineáris emelkedést mutat. 10% **savófehérje** hozzáadása a sovány tejporhoz **az SH-csoportok koncentrációját szignifikáns mértékben megnöveli**, ezért e módszer alapján a hozzáadott savó vagy savófehérje mennyisége meghatározható. Amennyiben a cisztein/cisztin arány nagyobb mint három, és a szialinsav mennyisége meghaladja a 3%-ot, a savófehérje kiegészítés bizonyított. Lehetőség van még a HPLC és a gélelektroforézis alkalmazására is, de ezek drága technikák.

Az aminosav-összetétel alapján is meg lehet határozni a hozzáadott savófehérje mennyiségét, amennyiben az eléri vagy meghaladja a 10%-ot. Ezt a módszert nem befolyásolja, hogy denaturált vagy nem denaturált savófehérjéről van szó, illetve hogy történt-e hőkezelés vagy nem. Próbálkoztak a glikomakropeptid HPLC-s vagy spektrofotometriás meghatározásával is, de a bakteriális szennyeződés miatt sok volt a fals eredmény. Jó eredményeket értek el a renninnel keletkezett savópor édes íróporhoz történő keverésének kimutatásával, de még jobbak voltak az eredmények a savanyú alvasztás esetében kapott savópornál.

A módszereket összehasonlítva megállapítható, hogy a HPLC-módszer mind megbízhatóságban, mind érzékenységben felülmúlja az összes többi, és vele 0,5% édes savópor hozzákeverése kimutatható a fehérjefrakciók analízise alapján.

A sajtgyártás során keletkezett édes savópor több vízzoldható molekulát tartalmaz, mint a tej, ezért magasabb a laktóz-, nátrium-, kálium- és kloridtartal-

ma. Ezért egyértelmű, hogy a tejporból készített tej fagyáspontja lényegesen alacsonyabb lesz, ha savóport adtak hozzá. A fagyáspontcsökkenésből regressziós egyenletek alkalmazásával a hozzáadott savópor mennyisége meghatározható.

Más módszerek is ismertek a hozzáadott savópor meghatározására, ezek azonban bonyolult előkészítési műveleteket igényelnek, ezért nem terjedtek el a gyakorlatban. Az infravörös spektroszkópia Fourier-tanszformációval kombinálva alkalmas lehet a fehérjék megkülönböztetésére.

5.1.5. Tejporból előállított (újraalkotott) tej

A tejporelőállítás során a fehérjék egy része denaturálódik, amit fel lehet használni az újraalkotott tej kimutatására. A festékkötéses módszerek, valamint a gélelektroforézis nem tudott különbséget kimutatni a normál és az újraalkotott tej között. A **β -kazein és az α -laktalbumin aránya alapján** azonban 25% újraalkotott tej normál tejhez történő keverése kimutatható.

Elektronmikroszkópos vizsgálat során kiderült, hogy az újraalkotott (rekonstruált) tej olyan 500 nm-nél nagyobb átmérőjű aggregátumokat tartalmaz, melyek a normál tejben nem fordulnak elő. Próbálkoztak a rezazurinnal is, mely más színt ad a két tej esetében, és a tej összes redukáló kapacitását is próbálták ebből a célból alkalmazni. Úgy gondolják, ha a sűrűség és a fagyáspont meg is felel az elvárható értéknek, az újraalkotott tejek nitráttartalma, az alkalmazott hígítóvíz nitráttartalma miatt, nagyobb lesz, mint a normál tejé, hisz **a normál tej nitráttartalma rendkívül alacsony**. Ha a nitráttartalom 1 mg/kg-mal nagyobb, akkor gyanakodni lehet, hogy a tej újraalkotott tejet is tartalmaz. A meghatározás során a nitrátot nitritté konvertálják, mely kemilumineszcens eljárással nagyon pontosan mérhető.

5.1.6. A tej- és tejtermék-hamisítás egyéb lehetőségei

Amennyiben a tej mangántartalma magas, borjútáppal való hamisításra gyanakodhatunk, ugyanis a borjútáp mangántartalma elérheti a 10–15 mg/kg-ot is, míg a tejé csak 0,021 mg/kg körüli. A tiszta tej kiegészítése növényi fehérjéket tartalmazó tejjel a savófehérje nitrogéntartalmának mérésével mutatható ki, miután a kazeint kicsapatták.

A nyers tej pasztőrözött tejhez történő keverése a **foszfataz enzim** aktivitásának mérésével mutatható ki. A mozzarella sajt valódisága skenning elektron mikroszkóppal ellenőrizhető, ugyanis a hamisítványokban olyan zsírgolyócskák találhatók, melyek az eredeti sajtokban nem mutathatók ki.

Glükózt, nádcukrot, karbamidot vagy ammónium-szulfátot azért adnak a tejhez, hogy a vízzel való hígítás tényét elfedjék. Ezekkel az anyagokkal még a fagyáspont-növekedést is meg lehet akadályozni, tehát kifinomult analitikai módszerekre van szükség a csalás leleplezésére. **A tejhez hozzáadott cukrot a**

tejben eredetileg is jelen lévő tejcukor miatt **csak kromatográfiai módszerekkel**, elsősorban HPLC-vel **lehet analizálni**, amikor is nem a cukrok összes mennyiségét, hanem a cukrokat egyenként határozzák meg. Gyors az a módszer, mikor a cukrokat invertáz enzimmal hidrolizálják, a keletkezett glükózt és fruktózt pedig enzimatikusan, glükóz oxidáz-peroxidáz teszttel határozzák meg.

A konyhasó tejhez történő hozzáadása 0,4%-ig nem okoz ízváltozást a tejben, de ezzel egy időben 13% vizet is lehet a tejhez adni anélkül, hogy fagyáspontja lényegesen megváltozna. A savasság csökkentésére ammóniaoldatot is adnak a tejhez, esetenként nátrium-bikarbonátot vagy antibiotikumokat, hogy hosszabb ideig eltartható legyen. 0,3% nátrium-bikarbonát hozzáadása lehetővé teszi a tej 10%-kal való hígítását vízzel, a mérhető paraméterek jelentős változása nélkül.

5.1.6.1. Egyéb zsiradékok a tejben, a vajban és a ghee-ben

Mivel a zsiradékok közül a tejszír az egyik legdrágább, annak hamisítása egyéb olcsó zsírokkal a világon szinte mindenhol előfordul. Leginkább a növényi olajokat, ezen belül is a **lenmagolajat, valamint a marhafaggyút használják a legnagyobb arányban a hamisításra**. A legtöbb országban többféle módszert dolgoztak ki a vaj hamisításának felderítésére. A módszerek többsége a trigliceridek szerkezetének megállapításán, a zsírsavösszetétel elemzésén, az el nem szappanosítható lipidek mérésén (szterinek, szterin-észterek, tokoferolok, karbonilvegyületek) vagy a fizikai tulajdonságok elemzésén alapul.

A legígéretesebb módszer a trigliceridek elemzésén alapul, melynek során a különböző szénatomszámú trigliceridek segítségével a tejszír a többi zsírtól jól elkülöníthető, és 5–10% idegen zsír hozzáadása nagy biztonsággal kimutatható. Különböző képleteket dolgoztak ki, melyek segítségével nemcsak a hamisítás tényét tudták feltárni, hanem azt is, hogy **milyen típusú zsiradékkal hamisították a tejszírt**. Ezek a módszerek azon alapulnak, hogy **csak a tejszír tartalmaz vajsavat, kapronsavat, kaprilsavat és kaprinsavat**, ezért a többi zsírnál jóval nagyobb koncentrációban fordulnak elő benne kisebb szénatomszámú trigliceridek, mint a többi zsiradékban. Óvatosan kell azonban kezelni az így kapott eredményeket, mert nemcsak a zsírsavösszetétel, hanem a trigliceridek összetétele is változhat az évszak, a régió és a laktációs állapot szerint. A téli tej például több rövid és közepes szénláncú trigliceridet tartalmaz, mint a nyári tej. Az ultraibolyafény-abszorpció nem hozott sikert a növényi olajok kimutatására a tejszírből, a vajsav koncentrációjának mérése viszont sikeresnek bizonyult. Igen sikeresnek bizonyult e célból a **gázkromatográfia (GC)**, melynek segítségével, kapilláris oszlop alkalmazásával, nemcsak a zsírsavakat, de a különböző helyzeti izomereket (cisz, transz, cisz-transz, cisz-cisz, transz-transz stb.) is meg tudták határozni. Ezen utóbbiak azonosítására jó hatásokkal alkalmazták az infravörös spektroszkópiát is.

A transz telítetlen zsírsavak infravörös spektroszkópiájával például 0–30% vajhoz kevert gyapotmagolajat tudtak kimutatni. A transz telítetlen zsírsavak ter-

mészetes módon előfordulnak a tejszírsírban, de nem találhatók meg a természetes állapotú, nem hidrogénezett (katalitikus hidrogénezés), növényi olajokban, ezért a transz telítetlen zsírsavak koncentrációjának mérése is lehetőséget ad a vaj hamisításának kimutatására. A kapott eredményeket itt is óvatosan kell kezelni, mert **a transz zsírsavak mennyiségét befolyásolhatja a takarmány transz zsírsavtartalma** és a marha bendőjében lejátszódó biohidrogénezési folyamatok is. A bendőben lévő mikroorganizmusok képesek a telítetlen zsírsavakat telíteni, a cisz izomerekből transz izomereket szintetizálni, sőt képesek az izolált kettős kötésekből konjugált kettős kötéseket előállítani, melynek eredménye lehet például az ember számára rendkívül hasznosnak tekintett cisz9, transz11 konjugált linolsav (és egyéb helyzeti izomerei).

A minősítés során a zsírsavak segítségével meghatározzák a különböző indexeket a tiszta, hamisítatlan tejszírra, majd a hamisított minta zsírsavösszetételét hasonlítva a tiszta minta összetételéhez, a hamisítás bizonyítható, sőt arra is kaphatunk információt, hogy mivel hamisították a vajat. Japánban a vajsavat és kapronsavat, valamint a koleszterint határozzák meg gázkromatográfiás módszerrel, majd a kapott adatokból következtetnek a hamisításra. A vajsav/kapronsav arány alapján a hamisítást akkor is ki tudják mutatni, ha **vajsavval átészterezett marhafaggyút vagy kókuszszírt adnak a vajhoz**.

Bár az évszaki és az égtáji különbségek lényegesek lehetnek a tejszír összetételét illetően, ezek a különbségek szinte elhanyagolhatók, ha a vaj és a hamisításra használt egyéb zsírok és olajok zsírsavösszetételét hasonlítjuk össze. Különösen jól hasznosítható a vaj hamisításának kimutatására a laurinsav/kaprinsav, a mirisztinsav/kapronsav és a mirisztinsav/laurinsav arány. A következő olajokat és zsírokat használják rendszeresen a vaj hamisítására.

Növényi zsírok. A tejszír zsírsavösszetétele, monoglicerid- és triglicerid-tartalma annyira különbözik a többi zsiradékétól, hogy nemcsak a növényi, de az állati zsiradékkal való hamisítást is ki lehet mutatni ezen komponensek mérése alapján. Figyelemmel a fajták közötti különbségekre, a klimatikus viszonyokra és a földrajzi elhelyezkedésre, a laurinsav/kaprinsav arány alapján a növényi zsírokat a vajzsírban nagy biztonsággal ki lehet mutatni. 10% kókuszszír, pálmaolaj vagy repceolaj, illetve 5% szójaolaj a tejszírsírban a hosszú és a közepes szénláncú trigliceridek alapján kimutatható.

A sajtból a részlegesen hidrogénezett növényi zsírokat gázkromatográfiásan, a zsírsavösszetétel alapján lehet kimutatni. A zsírsavakból képzett indexek közül a vajsav/olajsav arány volt a legérzékenyebb a hamisításra, mert a növényi olajok sok olajsavat és gyakorlatilag semennyi vajsavat nem tartalmaznak. Ez a módszer nem alkalmazható a kókuszszír esetében, mely viszonylag kevés olajsavat tartalmaz.

Az Indiában termesztett phulwara fa gyümölcséből készült növényi zsírral is hamisítják a gheet, mert színe és állaga nagyon hasonlít a vajéhoz, az ára viszont lényegesen olcsóbb. Mennyiségét a **trigliceridek vékonyréteg kromatográfiás analízisével** lehet mérni. Mivel növényi zsiradékról van szó, a koleszterin-

tartalom alapja is lehet a hamisítás kimutatásának. A koleszterin, illetve a fitoszterin mennyiségének mérése alkalmas lehet bármilyen növényi eredetű zsiradék kimutatására, mert a vaj szterintartalmának döntő többsége (több mint 99%-a) koleszterin, és más típusú szterolvegyület gyakorlatilag nem fordul elő benne. A gyapotmagolaj főként β -szitoszterolt tartalmaz, de még van benne γ -szitoszterol és sztigmaszterol is, ezért a **növényi olajjal való hamisítást egyértelműen jelzi a koleszterin koncentrációjának csökkenése**, illetve a növényi szterinek koncentrációjának növekedése a hamisított élelmiszerben. A zsírok finomítása, szagtalánítása, gőzölése nem befolyásolja a módszert, az állati eredetű zsiradékok, hasonló koleszterintartalommal, ezzel a módszerrel nem mutathatók ki a tejszírből. Két százaléknál több kukoricaolaj vagy rizsolaj, 5%-nál több kakaóvaj, repce-, szezám-, szójabab-, len- vagy mogyoróolaj, 20%-nál több kókuszszsír vagy pálmaolaj, vagy 35%-nál több pálmamagolaj ezzel a módszerrel kimutatható a vajból.

Az összes szénhidrogén és az összes szterol aránya az el nem szappanosítható frakcióban egészen más a szalonnában, a margarinban és ghee-ben, ezért ez is lehet a hamisítás kimutatásának alapja. A szalonna és a margarin 20–30-szor annyi szénhidrogént tartalmaz, mint a szarvasmarha ghee, és 10–15-ször annyit, mint a bivalytejből készült ghee. A fentiek alapján a szerkesztett regressziós egyenletek segítségével a ghee-hez kevert disznózsírt, illetve margarint nagy biztonsággal ki lehet mutatni.

A különféle növényi olajokban vannak olyan vegyületek, melyek csak abban az olajféleségben találhatók meg, semmi másban. Ilyen például a szezám-magolajban lévő szezamin és szezamol, melyek kimutatása egyértelműen utal a hamisításra, és ugyanerre utal a magas tokoferoltartalom is. A differenciál szkenning kalorimetria és a differenciál termál analízis is utalhat a hamisításra, ezek a módszerek azonban nem terjedtek el a gyakorlatban. Az alkoholban oldódó és az alkoholban nem oldódó trigliceridtartalom is alkalmas a megkülönböztetésre, illetve a hamisítás kimutatására.

Állati és tengeri eredetű zsírok. Az állati testzsírok vajban való kimutatása igen nehéz, mert ezek a zsírok nagyon sok tulajdonság tekintetében megegyeznek egymással. Sőt ezen a tényen átlépve megállapítható az is, hogy a bivalyokat gyapotmagpogácsával takarmányozva tejszírjuk hasonló lesz ahhoz, mintha a vajat állati zsiradékkal hamisították volna. Nagyon nehéz az állati eredetű zsiradékot a tejszírban kimutatni, ezért több módszert dolgoztak ki és alkalmaztak több-kevesebb sikerrel e célból.

Próbálkoztak a vajzsír és az állati zsiradék különböző oldhatóságával ecetsav : etilalkohol 3:4 arányú elegyében, a „vajsavszám” méréseével, az olvadás kritikus hőmérsékletének elemzésével (ghee 49,5–53,5 °C között, faggyú 70–73 °C között), a karbamid által kicsapott és ki nem csapott zsírtartalom méréseével, fluoreszcenciával, melynek során a hamisított ghee kék fluoreszcenciát, míg az eredeti hamisítatlan halványzöldet mutat, és különféle kromatográfias technikákkal. Ezen utóbbi technikák lényege az, hogy vagy a triglicerideket, vagy valamilyen frakciót,

de legtöbbször a zsírsavösszetételt határozták meg, melynek alapján, indexek képzésével, a vajhoz kevert különböző zsíradékokat meg tudták becsülni.

Az alkalmazhatóság szempontjából ezen **indexek közül kiemelkedik a sztearinsav : olajsav aránya, az összes telített és az összes telítetlen zsírsavak aránya, a palmitinsav : sztearinsav arány**, és a telített és a telítetlen trigliceridek aránya. Próbálkoztak enzimatiszta módszerrel, nevezetesen a lipáz enzim alkalmazása után visszamaradt szabad zsírsavak analízisével, a 2-monoacil-glicerinnel meghatározásával is, melynek az az elvi alapja, hogy a rövid szénláncú zsírsavak a trigliceridekben kevésbé állnak ellen a lipáz támadásának, mint a hosszú szénláncúak. Az UV spektrum elemzésével a 220–420 nm tartományban a vajat és disznósírt el lehet, míg a vajat és a faggyút nem lehet elkülöníteni egymástól.

Kromatográfiás elválasztás után a halolajat az eltérő fluoreszcencia jel alapján könnyű elkülöníteni a vajtól. Az illó zsírsavak desztillálásával és kromatográfiás meghatározásával 5–20% delfinolajat a vajtól könnyű volt elválasztani és megkülönböztetni. A vaj hamisítását triacetinnel vagy hidrogénezett delfinolajjal az illó desztillátum vezetőképességének mérésével ki lehetett mutatni, ugyanis a tiszta vaj vezetőképessége kisebb, mint a hamisítotté, melyet a nagyobb koncentrációjú ecetsav és izovaleriánsav okozott a delfinolajban.

Egyéb hamisítások. Hamisított a vaj akkor is, ha különböző állatfajok tejéből készül, vagy ha magát a tejsírt módosítják valamilyen technológiai beavatkozással. Ha különböző kérődző állatfajok összekevert tejéből állítanak elő vajat, akkor azt szinte lehetetlen kimutatni, mert még a gázkromatográfiás zsírsavanalízis sem elég érzékeny a megkülönböztetésre. Indiában nagy mennyiségben használnak fel hidrogénezett növényi olajokat, és nagy arányban hamisítják is a gheet ezzel az olcsó élelmiszerrel. Mivel a hidrogénezés foka ma már jól szabályozható, az ilyen jellegű hamisítást még az érzékeny GC-smódszerekkel is nehéz kimutatni.

5.1.6.2. A tej vizezése és annak kimutatása

A tej vizezése talán a legközönségesebb élelmiszer-hamisítás, amit hosszú ideje alkalmaznak. Ha csak vizet tesznek a tejbe, az **könnyen kimutatható a fagyáspont meghatározása alapján**, ugyanis a víz hatására tej eredeti fagyáspontja nő. A tejkrizoszkópiát előszeretettel használják a fagyáspont meghatározására, mert gyors, egyszerű és pontos módszer. A termisztoros krizoszkóppal, melyben a tejet túlhűtik, majd hagyják mechanikai hatásra megfagyni, melynek során annak **hőmérséklete** megemelkedik, majd a **fagyásponton rövid ideig állandó marad**, három százalék, tejhez hozzáadott víz nagy biztonsággal kimutatható.

A tej fagyáspontjának meghatározására legáltalánosabban használt eszköz a Beckmann-krizoszkóp. A készülék egy fagyasztófürtöt tartalmazó üveghengerből, az ebbe belemerülő fagyasztócsőből, valamint a fagyasztócsőben elhelyezett Beckmann-hőmérőből áll. A meghatározás során a megfelelően összeszerelt fagyasztócső oldalcsővén mintegy 20 cm³ előzetesen egyenlősített tejet mérünk be, majd

az így előkészített fagyasztócsövet 10–15 percre jeges vízzel telt fürdőbe állítjuk. A készülék üveghengerét só-jég keverékkel megtöltjük, majd ebbe helyezzük bele a fagyasztócsövet. A tejet platinakeverővel egyenletesen keverjük, majd mintegy 0,5 °C-kal a várható fagyáspont alá hűtjük. Ekkor a túlhűtés megszakítására az oldalcsövön át egy borsó nagyságú tej-jég darabkát csúsztatunk a túlhűtött tejbe, melynek hatására a hőmérséklet folyamatosan emelkedni kezd, majd megáll. A hőmérőben lévő folyadék segítségével a **hőmérséklet ezredfok pontossággal leolvasható**. A fagyasztócsőben lévő tej felolvasztása után a mérést még kétszer megismételjük, majd a mérések számtani közepét tekintjük a tej fagyáspontjának. Ezután a méréseket desztillált vízzel is megismételjük, és a két mérés közötti különbséget tekintjük a tej tényleges fagyáspontjának. Ha a tej megsavanyodik, akkor a fagyáspontja is csökken, ezért 7 SH°-nál magasabb savfokú minta vizsgálata esetén savfokonként 0,008 °C-ot vonunk le a leolvasott értékből. A tej fagyáspontja –0,53 és –0,56 °C között változik. Ha tej fagyáspontja –0,53 °C-nál nagyobb, akkor a tej vízzel hamisítottnak tekintendő. Amennyiben a tej fagyáspontja –0,53 °C-ról –0,27 °C-ra nő, a hígítás mértéke 2 és 50 százalék körülire tehető.

Mások a tej fagyáspontját –0,525 °C-ban szabták meg, amely ha ennél magasabb, akkor a tejet vízzel hamisították. Minden 1% víz hozzáadása a fagyáspontot 0,006 °C-kal megnöveli, ezért ezzel a módszerrel nemcsak a hamisítás tényét lehet kimutatni, hanem **a hozzáadott víz mennyiségére is információt kapunk**. Többben –0,525 °C-nak javasolják a standard tejmintha fagyáspontját megállapítani. A fagyáspont-meghatározással akkor kell óvatosan bánni, ha a tej megsavanyodott, mely esetben a savanyodás mértékét a fagyáspont megállapításakor figyelembe kell venni.

A módszer sok objektív hibával terhelt. A tej fagyáspontját befolyásolja a laktációs állapot és a tögygyulladás, a földrajzi elhelyezkedés, az évszak, a takarmányozás, a vízösszetétel, a tej kezelése, különösen a hűtés és a hőkezelés, amely tényezőkre a tej fagyáspontjának meghatározásánál figyelemmel kell lenni. A tej fagyáspontja mintegy 0,006–0,009 °C-kal nő a pasztörözés és 0,023 °C-kal az UHT-kezelés hatására, ezért a fagyáspont nem minden esetben jó indikátora a hőkezelt tejek vizezésének. A fentiekben túl befolyásolhatja még a fagyáspontot az is, hogy reggeli vagy esti fejérről van-e szó, sőt még a laktációs állapot és a fejés ideje is. A fagyáspont-meghatározás akkor sem elég érzékeny, ha írótnak adnak a tejhez, egyrészt mert a két anyag fagyáspontja nagyon hasonló, másrészt mert nagyok az egyedi különbségek a fagyáspontban.

A tejnek konstans az ozmózisnyomása. A tej ozmózisnyomása elsősorban a laktóznak (4,6–4,9% a tehéntejben), másodsorban pedig a nátrium- és a káliumionoknak, majd az összes többi ásványi anyagnak köszönhető, hisz a többi komponens ozmózisnyomásra kifejtett hatása elhanyagolható. Mivel a laktózkoncentráció viszonylag konstans, **bármilyen ozmózisnyomás-változás a sókoncentráció-változás eredménye**. Másrészt ha nő a laktóz koncentrációja a tejben, az az állandó ozmózisnyomás miatt maga után vonja a sókoncentráció csökkenését. A vizsgálá-

tok nem találtak összefüggést az ozmózisnyomás és a fagyáspontcsökkenés között, tehát az ozmózisnyomás mérését nem lehet felhasználni a tej vízzel való hamisításának kimutatására. Viszont **ha a laktózt hidrolizálják glükózra és galaktózra, az jelentős mértékben csökkenti fogja a fagyáspontot** ($-0,274\text{ }^{\circ}\text{C}$ -kal), és **növelni az ozmózisnyomást**. Fentiek miatt, ha a laktózt hidrolizálják, a tej mérsékelt mennyiségű vízzel való hamisítása, mivel a fagyáspont nem változik, nem mutatható ki.

Egyéb módszerek a tejhez adott víz kimutatására. A bivalytej 5–25%-os vizezése jelentős mértékben csökkentette az elektromos vezetőképességet. Az összefüggés a laktóztartalom, az elektromos vezetőképesség és a fagyáspont között nem volt szignifikáns, mert a tej összetételét, akár a laktóz tartalmát is, sok tényező, mint pl. a vemhesség, a takarmányozás, a különféle betegségek és a tej savanyodása, jelentős mértékben befolyásolja.

A tej vizezettségének kimutatására használták még a felületi feszültség- és a viszkozitásmérést, a tripszines emésztés és triklórecetsavas kicsapás után visszamaradt szűrlet abszorbanciájának mérését 280 nm hullámhosszon, és a nitrátionok analízisét, mely egyértelmű jele a hígításnak. Az ultracentrifugálás után visszamaradó szűrlet refraktometriás analízise jól használható az anyatej vizezettségének kimutatására. Használták még a termisztor-krioszkópot vagy a gőznyomás-termométert is a vizezés kimutatására, ezek a módszerek azonban nem terjedtek el a gyakorlatban.

5.1.7. Tej és tejtermékek hőkezeltségének meghatározása

A tejet, a benne lévő esetlegesen patogén mikroorganizmusok miatt, hőkezelní kell. A tejiparban manapság szinte minden tej és tejtermék valamilyen hőkezelésen megy át, és csak a hagyományos tejtermékek jelentéktelen hányadát készítik nyers tejből. A hőkezelés néha nem elégséges a patogén csírák elpusztítására, néha pedig, technológiai hiányosságból vagy akarattal, nyers tejet kevernek a pasztörözött tejhez, melyet a következő próbákkal lehet kimutatni, illetve a hamisítás mennyiségét becsülni.

5.1.7.1. A peroxidáz enzim kimutatása Storch-féle próbával

A Storch-féle próba a **80 °C feletti vagy a 75 °C hőmérsékleten 15 percnél hosszabb ideig hőkezelt tej** vagy ilyen tejből készült tejszín, savanyú tej és tejkészítmények, tehéntúró, gomolya esetén alkalmazható. A módszer lényege az, hogy a nyers vagy nem megfelelően hőkezelt tejben vagy az ilyen tejből készült termékben lévő peroxidáz enzim a hidrogén-peroxidot bontja, és a felszabaduló atomos oxigén az N,N-dietil-1,4-fenilén-diamin-hidrokloridot szürke, kékesszürke színű vegyületté oxidálja.

Ha a Storch-féle próba során a vizsgált tej színe legalább tíz percig megtartja eredeti, a forralt tejjel azonos színét, akkor peroxidáz enzim nem mutatható ki a

mintából. A vizsgálat során a nehézfémek is okozhatnak elszíneződést, melynek kiküszöbölésére a vizsgálatot a felforralt mintával is elvégezzük, és a forralt tejjel kapott színárnyalattal a tényleges minta színét megpróbáljuk korrigálni. Amennyiben az elszíneződés hosszabb ideig megmarad, akkor a vizsgált termék a hőkezelést nem kapta meg. Vegyszerrel tartósított minták ezzel a módszerrel nem vizsgálhatók.

5.1.7.2. A foszfatáz enzim mennyiségi meghatározása a 2,6-dibrómkinon-klórimid-fenol reakció segítségével

A foszfatáz enzim mennyiségi meghatározása a **80 °C alatti vagy a 75 °C feletti hőmérsékleten 35 másodpercnél rövidebb időtartamig, illetve a 65 °C-on 30 percig hőkezelt tej**, valamint az ilyen tejből készült tejtermék esetén alkalmazható. A nyers vagy elégtelenül hőkezelt tejben vagy nyerstejjel kevert pasztörözött tejben vagy ilyen tejből készült termékben a foszfatáz enzim a dinátrium-fenil-foszfátot hidrolizálja, a hidrolízis során felszabaduló fenol a 2,6-dibrómkinon-klórimiddel kék színeződést ad, amely a szabad fenol mennyiségével arányos és fotometriásan mérhető. A foszfatáz enzim aktivitását **egy cm³ tej által felszabadított fenol µg-ban kifejezett tömegével** adjuk meg.

A vizsgálati anyagot hígítani kell, ha annak fényelnyelés alapján mért fenoltartalma a 20 µg/cm³-t meghaladja. Vakpróbaként el kell végezni ugyanakkor a mintának a foszfatázenzim-aktivitásának meghatározását úgy is, hogy előtte a mintát két percig forraltuk, majd szobahőmérsékletűre visszahűtöttük. A mennyiségi meghatározás során kalibrációs görbét készítünk 0, 2, 5, 10 és 20 µg/cm³ fenoltartalmú oldatokkal. A standard oldatok, a vakpróba és a tényleges minta fényelnyelését 610 nm-en mérjük, majd a szerkesztett kalibrációs görbét használjuk fel a foszfatázenzim-aktivitás mérésére. Amennyiben foszfatázenzim-aktivitást tudunk ezzel a módszerrel kimutatni, akkor a minta a kellő hőkezelést nem kapta meg.

5.1.7.3. A foszfatáz enzim kimutatása hidrogén-orto-krezolftalein foszfáttal

Nyers vagy elégtelenül hőkezelt tejben vagy nyers tejjel kevert hőkezelt tejben vagy az ebből készült tejtermékben lévő foszfatáz enzim a hidrogén-orto-krezolftalein foszfátból orto-krezolftaleint szabadít fel, ami a lúggal lila-bíbor színeződést ad. Ha a próba elvégzése során a tejminta megtartja eredeti színét vagy a felforralt mintával azonos színt mutat, akkor megkapta a kívánt hőkezelést, ha a kémcső tartalma halványlila vagy lila-bíborszínűvé válik, akkor a mintából foszfatáz enzim mutatható ki, és a minta a kívánt hőkezelést nem kapta meg.

5.1.8. A gyulladásos tőgyből származó, kóros összetételű tej kimutatása

Masztiteszt-próba

Az indirekt próbák, mint amilyen például a masztiteszt-próba és a Whiteside-próba, a tejben lévő magvas sejtek (hámsejtek, leokuciták) mennyiségi viszonyait jelzik, ugyanis a reagens hatására **a sejtmagban lévő dezoxiribonukleinsav felszabadul**, és ennek a nyálkás konzisztenciájú anyagnak a mennyiségétől függ a reakció mértéke. Az ellést követő három-öt napon belül, valamint a laktáció utolsó hónapjában nagyobb a tej hámsejttartalma, ezért az ilyenkor pozitív reakció nem utal a tőgybetegségre.

A masztiteszt-próba végrehajtása során egy fogantyús tálca négy csészéjébe az első tejsugarak kifejeése után 2-3 cm³ tejet fejtünk, majd mindegyikbe 2-3 cm³ masztiteszt-reagenst töltünk. A reagenst és a tejet lassan összekeverjük, majd az elegy állományát és színét elbíráljuk. Ha az elegy változatlan konzisztenciájú és szürkés-kék színű, akkor a próba negatív, a tej egészséges tőgyből származik. Ha kevés átmeneti csomócskákat tapasztalunk (pozitív +), vagy maradandó nyálkás csomók, pelyhek jelennek meg az elegyben (pozitív ++), esetleg gyorsan sűrűsödő, de még folyékony, kifejezetten nyálkás csomókat kapunk bíborlila színnel (pozitív +++), esetleg az egész anyag kocsonyaszerű, mozgatás után a csésze közepén csomókba összeálló elegy, mely rendszerint bíborlila (pozitív ++++), akkor biztosak lehetünk, hogy **a tej beteg tőgyű tehéntől származik**. A tesztfoliadékban lévő indikátor az elegy színét is jelzi: **a bíborlila vagy bíborkék a tej lúgos kémhatását, a sárga pedig a savanyú kémhatást jelzi**.

Whiteside-próba

Szekréciós zavarok esetén a tejben lévő nagyobb számban található fehérvérsejtek sejtmagjában található nukleinsavak a nátrium-hidroxiddal sőt képeznek és kicsapódnak. A kicsapódás mértékéből a tőgygyulladásra, illetve szekréciós zavarra lehet következtetni. A Whiteside-próba során a frissen fejt tej öt cseppjéhez két csepp 1 mólos nátrium-hidroxidot adunk, és fekete üveglapon 20–30 másodpercig üvegbottal jól összekeverjük. **Pozitív reakció esetén a nukleinsav nátriumsója kicsapódik**. A próba negatív, ha a tej konzisztenciája nem változik meg. Ha búzadaránál nagyobb maradék szemcsék válnak ki (pozitív +), vagy egyenletes nyálkakicsapódás látható (pozitív ++), esetleg a tej egynemű nyálkás tömeggé áll össze (pozitív +++), akkor a tej gyulladásos tőgyből származik, emberi fogyasztásra alkalmatlan.

Az előzőekben ismertetett két próbát diagnosztikai célokra nem lehet felhasználni, a tehénállomány tejének vizsgálata viszont előnyös lehet olyan szempontból, hogy már az enyhe reakció is az elegytejből jelzi a masztitist, a nem megfelelő tőgyegészségügyi helyzetet. A pozitív elegytejminták esetén célszerű az állományt tőgynegyedenként átvizsgálni, és ha szükséges, sok pozitív reakció esetében, beavatkozásokat elvégezni.

5.1.9. A fogyasztásra alkalmatlan, romlott tej mennyiségének kimutatása alizarin-tesztel

Az alizarin-teszt a tej savtartalma, illetve pH-ja megváltozásának kimutatásán alapszik, melyet alkalmazni lehet az istállóban a gyulladásos tőgyből történő tej elkülönítésére, de alkalmas a szállítás vagy a tárolás során bekövetkező változások nyomon követésére is. Mivel a tejben lévő fehérjék is elveszítik eredeti formájukat a savtartalom növekedése hatására, a pH-változás jelzője lehet annak is, hogy a tej alkalmas lehet-e olyan tejtermékek gyártására, mint az UHT tej vagy a tejpor. Az alizarin-indikátor és a tej reakciójából következtetni tudunk arra, hogy a tej pH-ja a savas vagy a lúgos irányba változott-e, és hogy a változás hogyan befolyásolja a tej technológiai tulajdonságait.

Amennyiben a tej pH-ja jelentős mennyiségben csökken a tejsavas erjedés hatására, az alizarin-teszt pozitív lesz, de ilyenkor a tejfehérjék is koagulálódnak a tesztben lévő alkohol hatására, mert az alkohol megváltoztatja a negatív töltésű fehérjék és a víz kapcsolatát. Az alkohol elvonja a vizet, és mivel a fehérje stabilitása már csökkent a keletkező tejsav hatására, ezért a fehérjék az alkohol hozzáadására kicsapódnak. **A teszt során különböző alkoholkoncentrációjú alizarin-oldatot használnak**, melynek során az alkoholkoncentráció 44 és 75% között változik, normál teszt esetében 68%, mely 0,4%-ban tartalmazza az alizarint. Amennyiben a gyanú szerint a tej megsavanyodott, a tejsav-koncentráció 0,25–0,28% között van, akkor a fehérje már a 44%-os alkoholtartalmú teszt alkalmazása során is kicsapódik. Ha a tejsav mennyisége 0,18–0,21% között van, akkor a 68% alkoholtartalmú tesztet alkalmazzuk, melynek során a próba pozitív. Érzékenyíthetjük a tesztet, ha az alkoholtartalmat 70%-ra növeljük, és ha a minta még a 75%-os alkoholtartalmú tesztnél sem mutat kicsapódást, akkor a tejmintát ellenáll a magas hőmérsékletnek, és a fehérje még 100–112 °C-os hőkezelés során sem fog kicsapódni.

A fehérjekicsapódással párhuzamosan a tej színe is jelentős mértékben megváltozik az indikátor pH-függése következtében. A friss tej színe (pH=6,60–6,45; nincs kicsapódás) halványlila, az enyhén savanyú tejé (pH=6,30–6,50; némi pelyhes kicsapódás lehetséges) barnás-rózsaszín, savanyú tej esetében (pH=6,00–6,20; kisebb pelyhek a tejben) intenzív barnás-rózsaszín, erőteljes savanyodáskor (pH kevesebb, mint 6; erőteljes kicsapódás) sárga, édes alvadásnál, amikor a pH kissé megnő (pH= 6,60–6,75; erős kicsapódás), halványlila, tőgygyulladás esetében (pH nagyobb, mint 6,80; kis pelyhek) lila, lúg hozzáadására (pH nagyobb, mint 6,80; nincs kicsapódás) lila.

Mivel a laktáció elején és a végén a tej összetétele eltér a normális tejétől, ezek a tejek rendkívül érzékenyek az alkoholra, ezért az alkoholtesztel mind a kolosztum, mind pedig az öregfejős tehén tejének normál tejhez történő keverése kimutatható. A frissfejős teheneknél a pozitív teszt még nem jelent technológiai hibát.

Végezetül a teszt eredményének értékelése: Ha a 68% alkoholtartalmú reagens hatására a szín világoslila és nincs kicsapódás, akkor a tej jó minőségű,

technológiai szempontból elfogadható. Ha a szín világoslila marad, de apró pelyhecskék fordulnak elő, a tesztet meg kell ismételni, és az alizarin-teszt mellett a rezaurin-tesztet is el kell végezni. Ha a szín barnásrózsaszín és pelyhes kicsapódás állapítható meg, a tejet nem szabad feldolgozni.

5.2. A hús és a húsipari termékek hamisítása

A kereskedelemben leginkább a húsmarhától származó marhahúst, a sertéshúst, a baromfihúst, a birkahúst és a kecskehúst hozzák forgalomba. A fejlett országokban különböző húsmarhafajtákat tenyésztettek ki, melyeket akkor vágnak le, amikor húsup a legjobb minőségű és a legnagyobb tömeget produkálják. A tejelő és igásmarhák húsup a fejlődő országokban, elsősorban Ázsiában használják emberi fogyasztásra, és az utóbbi időkben a vízibivaly húsup is divatba jött Közel-Keleten. A baromfihúst, beleértve a csirkét, a kacsát és a libát is, világszerte fogyasztják, és az utóbbi időben sok egzotikus állat és madár húsupnak fogyasztása is divatba jött.

A sertés- és a marhahúsfogyasztást néhány országban tiltják a vallási előírások, és nem fogyasztanak húsup a vegetáriánusok sem. **A húsfogyasztás növekedésével előtérbe került a húshamisítás** és az annak kimutatására alkalmas módszerek fejlesztése. **A színhúsokat nehéz hamisítani**, a darált húsupokat azonban, melyeket kolbász és húspogácsák előállítására alkalmazznak, viszonylag könnyű. A húsiparban **a szójaliszt- vagy szójafehérje-koncentrátum használata nem megengedett**, ezért az ilyen fehérjék kimutatására és meghatározására is kidolgoztak módszereket.

A marha-, a sertés-, a birka- vagy a baromfihús minősége függ a fajtától, a kortól, a nemtől, a felnevelés helyétől, a takarmány összetételétől, a takarmánykiegészítőktől, a farm- és az állatorvosi gyakorlattól, a vágás módjától, a vágás utáni húskezeléstől, a tárolás minőségétől és még sok egyéb tényezőtől. Végezetül az organoleptikus tulajdonságok azok, amelyek az árat leginkább meghatározzák. A fentiek miatt nagyon nehéz a gyengébb minőségű hús jó minőségű húshoz való keverését kimutatni, ami igazán nagy kihívást jelent az analitikusok és módszerfejlesztők számára.

Az állattenyésztési gyakorlatban az utóbbi időben radikális változások történtek, különösen ami az állatélettant, a takarmányozás és a patológia vonatkozásait érinti. Korábban a takarmányozás során széles körben alkalmazott hozamfokozók, antibiotikumok, hormonok alkalmazása már sok országban tiltott, de e szabályok betartásának ellenőrzése is fontos feladat.

A magas versenyképességű, kiváló minőségű húsupok előállításához egyre inkább nélkülözhetetlen a tudományos eredmények azonnali alkalmazása a napi gyakorlatban. A megengedett takarmányadalékokon kívül használnak tiltott anyagokat is, melyek kimutatása ugyancsak az analitika feladata. Afrikai országokban,

elsősorban Kenyában mindennapos, hogy a **háziállatok húsát vadon élőkével hamisítják**, Ausztráliában pedig az, hogy kenguruhúst kevernek háziállatok húshoz. Ennek kimutatása szintén nehéz feladat elé állítja az analitikusokat.

Németországban a szarvashús több mint ötven százalékát importálják, és megnőtt az apróvadak, valamint az afrikai antilopok és a kenguruk importja is. Több hamisításra derült fény, ilyen volt például az, hogy kecskehúst akartak drágán antilophúsként eladni. A marhakolbászt gyakran csirke- és sertéshúsból készítették, és nem hús eredetű, nitrogéntartalmú vegyületeket adtak a húshoz, hogy megnöveljék annak fehérjetartalmát. A különböző fajok hújának egymástól való elválasztása, a keverés kimutatása nagyon fontos a törvényszéki orvostanban és a hústermékek minőségbiztosításában.

5.2.1. A különböző fajok hújának azonosítása

Különböző módszereket dolgoztak ki a különböző állatfajok hújának kimutatására. Az eljárás során a nyers húst vagy húskészítményt homogenizálják, extrahálják desztillált vízben vagy híg sóoldatban, és szűrés vagy centrifugálás után olyan oldatot kapnak, mely a szarkoplazma-fehérjéket és a maradék vérfehérjéket tartalmazza. Ez az oldat reprezentatív a különböző fajok fehérjéire, melynek segítségével az egyes fajok beazonosíthatók.

5.2.1.1. Elektroforézis

Az elektroforézist nagyon gyakran alkalmazzák a különböző állatfajok fehérjéinek azonosítására. A szétválasztott fehérjék a gélben nem specifikusan vagy enzimológiai és immunológiai módszerekkel azonosíthatók. Az elektroforézis során használhatnak homogén gél, gél koncentráció- és pH-gradienssel, vagy alkalmazhatnak kicsapószerkeket, mint amilyen pl. a karbamid, vagy detergenset a fehérje harmadlagos szerkezetének meghatározására. Az **elektroforézises technikák közül a PAGE a legalkalmasabb a húsfhérjék szétválasztására és meghatározására**. A hőkezelésnek kitett fehérjék esetében valamilyen oldószert kell alkalmazni, például a főtt lóhús és marhahús analízise során 8 mólos karbamiddal történő kezeléssel teszik alkalmassá a fehérjéket az elektroforézises vizsgálatra, melyet követően dialízis után a minta alkalmassá válik az oldható fehérjék és enzimek szeparálására. Ehhez hasonlóan lehet eljárni, amikor a húshoz hozzáadott szójafehérjét akarjuk kimutatni elektroforézissel, melynek során az extrakciót nyolc mólos karbamid és nátrium dodecil-szulfát oldattal végezzük el, és a szójafehérjéket keményítővel vagy PAGE-vel választjuk el a húsfhérjéktől.

Hasonló módon lehet eljárni, ha a húspitéből vagy magas hőmérsékleten sterilizált húsból kell analízist végezni. Ennek során nyolc mólos karbamiddal extrahálnak, 1 % 2-merkaptó-etanol jelenlétében, 18–20 °C-on, 16 órán át. A kapott oldatban lévő fehérjéket 6%-os poliakrilamid-gélben választják szét egymás-

tól. A karbamid széthasítja a hidrogén- és egyéb kötéseket, melyek a hőkezelés során keletkeztek a hőkoaguláció miatt. Az autoklávozás vagy a konzerv hőkezelése során kovalens kötések is keletkezhetnek a fehérjeláncok között, melyet követően a karbamidos kezelés már alkalmatlan a fehérjeláncok visszaalakítására és extrahálására.

Ilyen esetben a peptidláncot cián-bromiddal hasítják a metionin mellett, mely elegendő peptidet eredményez a fehérje azonosítására PAGE-val. A szójafehérjét, a tej- vagy tojásfehérjét ugyanezzel a módszerrel lehet kimutatni húskészítményekből.

5.2.1.2. Poliakrilamid gélelektroforézis

A PAGE három fő lépésből áll: a fehérjék extrakciója, a fehérjefrakciók szétválasztása az elektroforetikus mozgékonyaság alapján, a fehérjecsíkok festése és a festék kivonása. A fehérjék festésére amido feketét használnak, melyet követően különböző helyeken a fehérje koncentrációjának megfelelő intenzitású csíkokat kapnak, melyek segítségével a fehérjék minősége és mennyisége beazonosítható. Egy állatfajra a csíkok helye, száma és intenzitása karakterisztikus, melyek segítségével az egyes állatfajok egy gyakorlott vizsgáló számára szinte ránézésre, szabad szemmel beazonosíthatók.

Denzitométer alkalmazásával nemcsak a csúcsok minősége látható kromatogram formájában, hanem a csúcsszélesség és a csúcsintenzitás integrálása után, megfelelő hitelesítő egyenes segítségével, az egyes fehérjefrakciók mennyiségileg is meghatározhatók. A csíkok mintázata fajspecifikus, ezért az egymásba kevert fajok húsa ezzel a módszerrel nagy biztonsággal beazonosítható. A módszer alkalmas friss és fagyasztott minták vizsgálatára is.

5.2.1.3. Poliakrilamid gélelektroforézis izoelektromos fókuszálás

A poliakrilamid gélelektroforézis izoelektromos fókuszálás (PAGE-IEF) a fehérjék pH-gradiensben történő mozgékonyaságán alapszik, melynek során a mozgás megáll ott, ahol a fehérje eléri az izoelektromos pontot, hisz ott töltése semleges lesz. Ez a módszer jó eredményeket adott, amikor a marha-, a sertés-, a ló-, a birk-, a bány- és a szarvashús analízisét végezték el, és szintén jó eredményeket adott a főtt garnélarák, a hal és halfilé, valamint az olajban sült cápahús esetében is. A különféle hőkezelési módok, a konyhasó vagy a nitrit hozzáadása nem zavarta a módszert, bár a fehérjefrakciók élességét és mennyiségét a hőkezelés negatívan befolyásolta. Az alkalikus régió specifikus a különféle fajok fehérjeire, míg a savas régió inkább a hőkezelés intenzitásáról ad információt.

A kismolekula tömegű miozinláncok segítségével 5% marhahús sertéshúshoz történő keverése nagy biztonsággal kimutatható. A kimutatás pontossága megköveteli, hogy a standard és a minta analízise során ugyanazokat a paraméte-

reket alkalmazzák. A tojásfehérjét húskészítményekből az ovomukoid extrakciója és PAGE-vel történő analízise során lehet kimutatni. A húshoz adott szójafehérjét is viszonylag könnyű kimutatni és meghatározni PAGE-vel, mert a szója tipikus fehérjéje, a glicinin, egy határozottan elkülönülő csíkot ad a húsfehérjék mellett.

Ezzel a módszerrel **különbséget lehet tenni a dél-afrikai antilop és az impala, valamint az őz és a szarvas húsa között**, és a hőkezelt marhahúst is meg lehet különböztetni az őz, a szarvas és a zerge húsától. A PAGE izoelektromos fókuszálást eredményesen alkalmazták a baromfi, egyéb gazdasági állatok és a hal húsanak megkülönböztetésére is. Izoelektromos fókuszálással olyan enzimek is megkülönböztethetők egymástól, mint az adenilát-kináz, mely alkalmas a ken-guru- és a lóhús kimutatására marhahúsban, a peroxidáz, melynek segítségével a marhahús és a sertéshús különböztethető meg egymástól. A foszfoglükonát-dehidrogenáz enzim analízise **alkalmas a birka- és a kecskehús megkülönböztetésére**, a laktát-dehidrogenáz izoenzim pedig **tipikus bölényhús esetében**.

Amióta megtiltották a cetek húsanak kereskedelmi forgalomba hozását, módszereket dolgoztak ki a különböző tengeri állatok húsanak azonosítására és meghatározására. A hús és a különböző szövetek enzimeinek analízise alapján, PAGE-vel és IEF-fel, a különféle cetfajták húsa beazonosítható anélkül, hogy megfelelő standard mintára lenne szükség.

5.2.1.4. Poliakrilamaid gélektroforézis nátrium-dodecil-szulfáttal

Amikor a PAGE mellett nátrium-dodecil-szulfátot (SDS) is adnak a mintához, 2-merkaptó-etanol redukáló anyag mellett, **a fehérjék molekulatömegük szerint mozognak az elektromos erőterben**, így a fehérjéket a molekulatömeg alapján be lehet azonosítani és mennyiségüket meg lehet mérni. A PAGE-SDS-t a marha-, a birka-, a bárány-, a szarvas- és a nyúlhús azonosítására alkalmazták. A módszer ezen túl alkalmas a friss vagy hőkezelt szójaliszt húshoz történő hozzákeverésének megállapítására és különféle rákfajok húsanak elkülönítésére. A módszer alkalmas ezen túl a 100 °C feletti hőkezelésen átesett fehérjék azonosítására is, efeletti hőmérsékleten azonban a sávok legtöbbje már eltűnik és alkalmatlan az azonosításra. A módszer használható a 0,5%-nál több tejfehérje kimutatására kolbászból.

5.2.1.5. Immunológiai módszerek

Az immunológiai módszerek közül azok a legjobbak, melyek speciális antiszérumot reagáltatnak azzal a húsextraktummal, melyből a hamisító anyagot, az idegen fehérjét vagy húst ki akarják mutatni. A szérumfehérje csak a megfelelő antitesttel lép reakcióba, és a pozitív reakció a hamisítás tényét deklarálja. A juh, a sertés és a ló mioglobinszérumát előnyösen használták agargél-diffúzióval kombinálva ezen fajoktól származó fehérjék kimutatására marhahúsból. A nyúlban termeltetett antijuhmioglobin szérumot, a kecskében termeltetett antisertésmio-

globin szérumot, valamint nyúl antilószérumokat alkalmazták a minimum 3%-ban a marhahúshoz kevert különböző fajok hújának kimutatására. **A szójafehérjét hőkezelt húsokból** ugyanezzel a módszerrel **könnyen ki lehetett mutatni**, mert a módszer kivitelezése relatíve egyszerű és az eredmények értékelése is könnyű.

Az **egyszerű immunodiffúziós módszernél** a gélben az antitestek egyenletes koncentrációban vannak elosztatva, az antigéneket (a húsból kivont fehérjéket) pedig a gélbe vájt lyukakba juttatva hagyják, hogy a gélbe diffundáljanak. Amint az antigén a gélben kapcsolatba kerül az antitesttel, egy precipitációs sáv, gyűrű keletkezik, melynek átmérőjét mérve nemcsak minőségi, hanem a gyűrű átmérője alapján mennyiségi meghatározásra is lehetőség van. A módszert sikerrel alkalmazták a szójafehérje, a hidrolizált tejfehérje és az ovalbumin kimutatására különböző élelmiszerekből.

A **dupla immunodiffúziós módszer** esetében az antigént és az antitestet a gél két szélén, egymástól határozottan elkülönítve helyezik el, majd hagyják, hogy azok egymás felé diffundáljanak. A két anyag találkozásakor precipitáció történik, mely az antigén-antitest komplexnek felel meg. Mivel az antigén és az antitest diffúzió is függ a diffúziós koefficienstől és az anyag koncentrációjától, a kicsapódások a gél különböző részein történnek meg és könnyen értékelhetők. Ezzel a módszerrel a ló-, a sertés- és a csirkehús is kimutatható marhahúsból, melynek során a kimutatási határ lóhús esetén 5%, a csirke- és sertéshús esetében pedig 20%. Mind az egyszerű, mind a dupla immunodiffúziós módszernél a kapott jelek (precipitációk) átfedhetik egymást, ezért van egy bizonyos korlát, amelynél több frakció ezzel a módszerrel nem mutatható ki a vizsgált mintából.

A precipitációs reakcióknál általában a precipitációs köröket értékelik, melyek segítségével egy hitelesítő egyenest tudnak létrehozni a mennyiségi kiértékelésre. Ennek során a konstans koncentrációjú antiszérumhoz eltérő, ismert koncentrációjú antigéneket adnak, melyek különböző nagyságú precipitációs gyűrűket hoznak létre. Ilyen antiszérumot létrehoztak az ökör, a bölény, a kecske és a juh esetében is, és hatékonyan alkalmazták ezen fajok hújának kimutatására.

A kutatók olyan módszereket is kidolgoztak, melyekkel **a húshoz adott szérumot** (idegen víztartalmat) **is ki lehetett mutatni** friss és alacsony hőmérsékleten kezelt termékeknél. Ismertek olyan módszerek is, amelyekkel a húshoz kevert vázfehérjét (kollagént) lehet kimutatni, és a tojásfehérje húshoz keverését ezzel a módszerrel is könnyen ki lehet mutatni.

Az ELISA-módszer alkalmazása

Nagyon sok ELISA-módszert kifejlesztettek a húshamisítás kimutatására, melyek közül a legismertebbek azok, amikor alkalikus foszfatázt, peroxidázt vagy glükóz-oxidázt használnak a szilárd hordozóhoz kötve elemzésre. A módszer segítségével Ausztráliában az alábbi állatfajok bármelyikének húsból egy százalékot bármelyikéhez keverve, az kimutatható. A vizsgált állatfajok a következők voltak: szarvasmarha, ló, kenguru, birka, kecske, sertés, teve, bivaly

és majom. A hatékonyság növelésére karbamidot és brómkrezolzöldet használnak indikátorként.

Az ELISA-módszerrel, az avidin-biotin rendszer kiépítésével, 0,7 g/kg koncentráció felett a **savófehérjéket is nagy biztonsággal ki lehet mutatni**. Ezzel a módszerrel a májpástétomhoz 6,5%-nál nagyobb mennyiségben hozzákevert savófehérje mennyiségét meg lehet határozni. A módszer érzékenységét cianogén-bromiddal aktivált nitrocellulóz membrán alkalmazásával tovább lehet növelni, így még a hőkezelt mintákból is ki lehet mutatni a savófehérjét, de a nyers mintáknál az érzékenység sokkal jobb.

A módszernek van egy direkt és egy indirekt változata. A direkt változat esetében a vizsgálni kívánt antigénnel hoznak létre antitestet a nyúlban és ezzel végzik a vizsgálatokat, az indirekt módszer esetén pedig egy második antitestcsoportot hoznak létre kecskében, ami a nyúl IgG-re specifikus. Az indirekt ELISA-t a hőkezelt sertéshús kimutatására alkalmazzák szinte minden hústermékből, így a módszerrel még a 120 °C-on 30 percig hőkezelt birkahúsból is ki lehet mutatni. Ugyancsak sikerrel alkalmazták az ELISA-t a szardíniakonzervek azonosítására és a lóhús kimutatására nyers keverékekből.

Összefoglalva tehát az **ELISA az egyik legjobb módszer a húshamisítás kimutatására**, mert a tesztet három óra alatt végre lehet hajtani, mert 10%-nál nagyobb mennyiségű hamisítást, bármely állatfaj húsaról legyen is szó, fel lehet fedezni, extra érzékeny esetben 1 mg húsminta elég az azonosításra, és végül kevesebb igen specifikus antiszérum szükséges a meghatározáshoz, és nem szükségesek extra tiszta készítmények, ami a költségeket jelentősen csökkenti.

Az indirekt ELISA-módszer azért is nagyon közkedvelt, mert a húsextraktumot közvetlenül lehet alkalmazni a meghatározásra. Az ELISA-val és a peroxidáz-antiperoxidáz tesztel (PAP) a nyers, a részlegesen hőkezelt vagy a hőkezelt húsmintákat is el lehet különíteni egymástól speciális antiszérumok alkalmazásával. A dupla antitest szendvicstechnika ugyancsak alkalmas különböző állatfajok (sertés, baromfi) húsanak elkülönítésére még főtt állapotban is.

Az autoklávval hőkezelt szója tripszines emésztése után kapott tisztított glicinin szintén alkalmas antiglicininnel történő kimutatásra, melynek során a **húshoz kevert szójafehérje nagy biztonsággal kimutatható és meghatározható**. A kereskedelmi forgalomban kapható kitekkel 2% 100 °C-on kezelt szójaliszt, illetve 1% szójafehérje-koncentrátum hústermékekből kimutatható.

Ellen-immunoelektroforézis

Ezen eljárás során a **meghatározni kívánt fehérjék az elektromos térben a katód felé, az antitestek pedig az anód felé vándorolnak**. Találkozáskor létrejön az antigén-antitest reakció, mely kicsapódás formájában látható és detektálható. A módszernek olyan nagy az érzékenysége, hogy 300 az egyhez mennyiségű anyag is kimutatható vele.

5.2.2. Egyéb módszerek a húshamisítás kimutatására

A **savas foszfatáz enzim alapján** történő kimutatás széles körben elterjedt módszer, mert ez az enzim szinte mindenben előfordul, az élővilág minden szintjén jelen van. Próbálkozások történtek kimutatására húsmintákból abból az elgondolásból, hogy aktivitása a különböző húsokban lényegesen eltérő. Szignifikáns különbség van az enzimaktivásban a marha- és a kecskehús között, amely alapján a keverékek meghatározhatók, azonban az enzimaktivitás változik a korral, ezért később már bizonytalan eredményeket ad.

A vizsgálónak viszonylag könnyű dolga van, **ha növényi eredetű – például szója – fehérjét kell kimutatni a húsból**. A szójával való hamisítást a szója szénhidrátjai, elsősorban pentózei alapján lehet kimutatni, a pentózok ugyanis a húsból csak igen kis koncentrációban fordulnak elő. Nem csak a szója esetében, hanem az egyéb növényi eredetű anyagok hozzákeverésével (pl. fűszerek) nő a pentóz-, különösen a pentozánok mennyisége, ami felhasználható ezen anyagok kimutatására.

Specifikus peptidek analízisét is felhasználhatják a hamisítás kimutatására. A 18 fehérjeépítő aminosav közül van néhány, elsősorban metilezett származék, ami a kimutathatóság alapja lehet. Így például a leanmeat-ben az N-metil-lizin az, ami a kimutatás alapját képezheti, míg a marha-, a sertés- és a csirkehús N-metil-hisztidint tartalmaz 11–13 $\mu\text{g/g}$ koncentrációban. Mivel mindkét aminosav mennyisége széles határok között változik, és a technológia is befolyásolja a koncentrációt, ezért a módszer hamisítás kimutatására nem terjedt el a gyakorlatban. A vázfehérjék tartalmazzanak egy hisztidin-tartalmú dipeptidet, az anszerint (β -alanil-L-1-metil-hisztidin), karnozint (β -alanil-L-hisztidin) és balelint (β -alanil-L-3-metil-hisztidin), melyek alapján a húshoz kevert vázfehérje kimutatható, ugyanis ezen peptidek aránya nagyon jellemző a különböző állatfajokra, melyeket még a hőkezelési eljárások sem befolyásolnak. A három aminosav-származék és a köztük lévő arány olyan jellemző az egyes állatfajokra, hogy a hamisítás ténye velük könnyen kimutatható. A fentiekén kívül vannak még olyan dipeptidek is, amelyek jellenzőek például az élesztőre, a húsról és különböző extraktumokra, és ott vannak még a nukleotidbázisok is, amelyek mennyisége ugyancsak használható a hamisítás kimutatására.

A csirke- és a pulykahús egymáshoz keverését HPLC-s módszerrel viszonylag könnyen ki lehet mutatni. A módszer nagyon egyszerű: vizes extrahálás, melyet követően a mintát tisztítás és szűrés után azonnal be lehet táplálni a HPLC oszlopára. A csirke- és a pulyka-kromatogramok esetében lehet találni olyan csúcsokat, amelyek csak az egyik vagy csak a másik kromatogramon fordulnak elő, ami alapján a húsok beazonosíthatók. Készíthető egy kalibráció ezekre a specifikus, de valójában azonosíthatatlan csúcsokra, mely segítségével 5–100% arányban egymáshoz kevert minták meghatározhatók. **A fehérjeprofili analízisével a különböző nyersalminták is megkülönböztethetők egymástól**. A módszert nem

zavarja az évszak, a hely, az időjárás vagy például a szárítás módja. Ezzel a módszerrel a savófehérjék is kimutathatók húskeverékekből. Az analízis pár perces előkészítést követően mintegy egy órát vesz igénybe.

5.2.2.1. Zsír- és zsírsavanalízis

A különböző állatfajok húsanak zsírsavösszetétele jelentősen eltérhet egymástól, ezért ez felhasználható az egymáshoz kevert húsok kimutatására. Ezt a módszert már régóta használják a sertés-, a marha- és a birkahús elkülönítésére, és különösen a sertészsír marhafaggyúval való hamisításának kimutatására. A linolsavtartalom alapján a kenguru- és lóhús jól elkülöníthető egymástól, és a zsírsavakban lévő különbség a mennyiségi meghatározásra is felhasználható. **A kérődző állatoktól származó hús** a bendőfermentáció következtében **tartalmaz transzzsírsavakat is**, amelyek a monogasztrikus állatok húzában nem fordulnak elő. Ezek közül talán legjellegzetesebb a konjugált linolsavak csoportja, melyek közül legnagyobb koncentrációban a cisz9, transz11 konfigurációjú fordul elő legnagyobb mértékben a kérődzők húzában.

A zsírsavakon kívül még a **zsírsavak triglicerideken belüli elhelyezkedése is indikátora lehet bizonyos fajta hamisításnak**. Amennyiben a kettes helyzetben lévő zsírsavak mennyiségét tekintjük az összes zsírsav százalékában, akkor ez a paraméter is különbözhet az egyes állatfajoknál. A disznózsír és az egyéb zsírok könnyen megkülönböztethetők egymástól a disznózsír magas palmitinsav-tartalma alapján. Ezen kívül a telített és a telítetlen zsírsavak aránya is indikátora lehet a hamisításnak. Gáz-kromatográfiás analízissel 5% marhafaggyú a sertészsírban vagy 10% sertészsír a marhafaggyúban kimutatható. **Az iszlám országokban a disznózsír tiltott a táplálkozásban**. A palmitinsav-növekedés és a telítetlen zsírsavak csökkenése, illetve a belőlük képezett faktorok jó indikátorai a disznózsírnak, és velük 5% disznózsír marhafaggyúhoz történő keverése kimutatható.

A teljes szójabab darált húsból készült kimutatására legalkalmasabbak az el nem szappanosítható zsírok és a szterinek. A szójában más az el nem szappanosítható lipidek mennyisége, és ugyancsak jelentős különbség van a szterintartalomban is, melyből a szója másfélszer annyit tartalmaz, mint a hús.

A sertészsír a triglicerid zsírsaveloszlásában is jelentősen különbözik a többi zsírtól, és van egy sajátos komponense, a **11,14-eikozadiénsav**, mely **csak sertészsírban található meg**, a többi zsíradék ilyen komponenset nem tartalmaz. Segítségével 1% sertészsír egyéb zsírhoz történő keverése kimutatható. A zsírsavak trigliceridekben elfoglalt helye alapján, nevezetesen hogy milyen, telített, telítetlen, rövidebb vagy hosszabb szénláncú van középső vagy szélső pozícióban, a zsírok ugyancsak beazonosíthatók. A különféle trigliceridek HPLC-vel szétválaszthatók és meghatározhatók, és mivel a konfigurációjuk nem változik a hőkezelés során, a módszer hevített zsírok esetében is alkalmazható. A módszerrel 2% sertészsír a marhafaggyúban vagy 3% sertészsír a birkafaggyúban kimutatható.

A különféle húsminták különböző mennyiségben tartalmazzák nemcsak a zsírsavakat, de a foszfolipideket felépítő zsírsavakat és aldehideket is. A marha, a bárány, a disznó és a csirke foszfolipidjei több mint 40% etanolamin-plazmalogént tartalmaznak, míg a halé csak 13%-ot. A kolinplazmalogén a kolinfoszfolipidben a halak esetében kb. 1%, míg a különböző húsokban mennyisége 10–30% között változik.

A konzervek sertésszírtartalmának meghatározására próbálkoztak az infravörös spektroszkópiával is. Az infravörös spektrum vizuális kiértékelésén túl algoritmus- és főkomponens-analízist alkalmaztak a bárány-, a csirke-, a marha- és a pulykazsír kimutatására és meghatározására. Ez a módszer alkalmas egyébként a nyers és a hőkezelt minták megkülönböztetésére is.

5.2.2.2. Ásványi anyagok analízise

Az ásványi anyagok analízisét alkalmazták a **darált húshoz kevert szójadara kimutatására**, amelynek az az alapja, hogy a szója több foszfort, káliumot és magnéziumot, míg a hús több nátriumot és cinket tartalmaz, ami kiváló lehetőségnek bizonyult a hamisítás kimutatására. A hamisítás céljából a darált húshoz adott csontlisztet a kalciumtartalom alapján lehet kimutatni, mert minden 1 g hozzákevert csont 160 mg-mal növeli meg a kalciumtartalmat.

Alkalmaztak még a hamisítás kimutatására szövettani és differenciál szkennig kalorimetrikus vizsgálatokat is, ezek a módszerek azonban nem terjedtek el a gyakorlatban.

5.2.2.3. Biokémiai indexek alkalmazása a húshamisításban

A **biokémiai indexek**, mint amilyen például a kreatin és a kreatinin, az összes nitrogén, a nettó izomfehérje mennyisége, a hidroxiprolin, a triptofán, a kreatinin-foszfokináz és a foszfo-hexoizomeráz, **alkalmasak lehetnek mind a különböző húsfajták megkülönböztetésére és beazonosítására**, mind a húskeverékek mennyiségi és minőségi értékelésére.

A friss kecskehús megkülönböztethető például az összes többtől az Mg^{2+} -ATP-áz és a peroxidázaktivitás alapján, mert e két enzim aktivitása a kecskehúsban szignifikánsan nagyobb az összes többi húsnál. A marha és a bölény húsa a foszfatáz- és a katalázaktivitás alapján, a kecske és a birka húsa pedig a szukcinil-dehidrogenáz és az alkalikus foszfatáz aktivitás alapján megkülönböztethető meg a többi fajtaétól. Az összes pigmenttartalom analízise is alkalmas lehet az igazi marhaburger és a hozzáadott szóját tartalmazó szójaburger megkülönböztetésére.

Ausztráliában a prémium kategóriába tartozó barramundi gyakran helyettesítik a sokkal olcsóbb halakkal, mint amilyen például a királylazac. Az inozin és a hipoxantin, valamint ezek aránya alkalmas a megkülönböztetésre, mert a barramundi nagyon sok hipoxantint tartalmaz, míg a többi hal inozinban gazdagabb.

A hőkezelt lipidek olyan különleges aromaanyagokat tesznek szabaddá, mint például az 1-heptadecén és az 1-oktadecén, melyek a marhahústra jellemzőek, vagy a 12-metil-tridekanal, mely csak a párolt marhahústra jellemző. Azt gondolják, hogy ezen utóbbi vegyület azért jellemző csak a kérődzőkre, mert a baktériumos bendőfermentáció során keletkezik, majd beépül a plazmalogénekbe.

A dezoxiribonukleinsav hibridizációja

A korábban tárgyalt szerológiai és elektroforetikus módszerek jobbára csak a nyers húsmintákra alkalmasak, a hőkezelt minták esetében nehéz megbízható eredményt kapni. Újabban a **DNS reasszociációján alapuló módszer kezd elterjedni**, melynek lényege, hogy a DNS-t különféle pufferek segítségével kicsapatják, extrahálják, mossák, majd RNáz enzimmel kezelik 37 °C-on egy órán át. Az oldatot ultrahangos kezeléssel 0,2–2,0 kilobázis nagyságú fragmentekre vágják szét, majd az így kapott fragmentumokat a slot-blot szűrőhöz kötve hibridizálják, a maradék reagenst mosással eltávolítják, majd a hibridizálódott anyagot az autoradiográfiás jel alapján lézer denzitometriával beazonosítják és meghatározzák. A módszert sikeresen alkalmazták csirke-, sertés- és marhahús azonosítására, bár a keresztreakciók miatt kellő óvatosság ajánlható.

5.2.3. A hús frissességének meghatározása

A hús frissességének meghatározására több módszert is kidolgoztak. Ezek közül széleskörűen alkalmazzák a **fehérje bomlástermékeinek meghatározását**, ezen belül is az összes illó bázikus anyag analízisét, az aminonitrogén meghatározását, az aminosavak analízisét, az aminosavak és az indol meghatározását, a zsír bomlástermékeinek analízisét, ezen belül mérték a szabad zsírsavakat, a peroxid- és savszámot, a tiobarbitursav-számot, a nukleinsav-bomlástermékek analízisét és más egyéb különleges technikákat is.

5.2.3.1. A fehérje bomlástermékeinek analízise

A húsok fehérjetartalma széles határok, 10–20% között változik. A fehérje bomlástermékeinek a megjelenését az autolízis, illetve a baktériumok proteolitikus enzimek egyaránt okozhatják, melynek következtében oldható peptonok és polipeptidok, majd ezekből aminosavak keletkeznek. Ezt követően az **ammónia**, a trimetilamin és az egyéb aminosavak **mennyisége a bakteriális tevékenység miatt folyamatosan nő**, melyet, a baktérium fajtájától függően, a hőmérséklet és az aerob vagy anaerob viszonyok befolyásolnak. Így például a *Pseudomonas* baktérium a marhahús esetében aerob körülmények között az aminosavak dekarboxilezésével ammóniát produkál. A broiler húsból szoros összefüggést találtak az összcsíraszám és az ammónia mennyisége között. Ammónia egyébként keletkezhet a nukleotidok és az aminosavak enzimatis lebonthatása következtében is. Lineáris összefüggést kaptak a sóoldható fehérjetartalom és a dimetilamin-,

valamint a formaldehid-tartalom között. Egy **alkoholtesztet** is kidolgoztak, mely szerint a friss hús csak 70–80% alkoholkoncentrációnál adott csapadékot, míg az állott hús már 30–40% alkoholkoncentrációnál is kicsapódott.

5.2.3.2. Az összes illékony bázis analízise

Az **összes illékony bázis (TVB)** analízise nagyon népszerű a tintahal frissességének megállapítására. Ezt az indexet már régóta alkalmazzák a hús és a hal romlásának analízisére. Amennyiben ennek mennyisége kevesebb mint 30 mg/100 g, jó minőségű, friss, 30–40 mg/100 g között másodosztályú, e fölött pedig harmadosztályú árurol van szó. Különböző színváltozással operáló reagenseket alkalmaznak a TVB meghatározására, mely a gyakorlatban igen elterjedt. A hematoxinin például sárgáról vörösesbíborra, a kurkumin halványsárgáról mély barnásvörösre, a fenolvörös pedig halványsárgától ragyogó vörösre **színeződik el az illó bázisok hatására**. Az illó bázisok legnagyobb része ammónia, trimetilamin csak kis koncentrációban fordul elő a húsban. Ezen utóbbi koncentrációja szoros összefüggésben van az érzékszervi bírálatok eredményeivel. Az ammóniavizsgálatok eredményeit meghamisíthatja, ha például a hízómarhák karbamidos tápot fogyasztanak, mert a karbamid, bekerülve a vérbe, mérgezést okozhat, és a véren keresztül eljuthat a húsba is, melynek tulajdonságai hasonlatosak lesznek ahhoz, mint amikor a fehérje bomlik. Az emberi fogyasztásra alkalmas húsok ammóniatartalma maximum 30 mg%.

Az ammóniával ellentétben **a trimetil-amin jó indikátora a tengeri és az édesvízi halak romlottságának**, és a romlott hal szaga is a trimetilaminnak köszönhető. A trimetilamin mérésére alkalmazzák a turbidimetriát, a gázkromatográfiát, a trimetilamin dehidrogenázsal működő enzimátikus módszert, félvezető szenzorokat és ionspecifikus elektródokat. Az ammónia meghatározására sok módszer alkalmas. Legrégőbbi klasszikus módszer, amikor az ammóniát bórsavba desztillálják és kénsavval megméri. A friss hús 3–10 mg/100 g, míg a romlott hús több mint 20 mg/100 g ammóniát tartalmaz.

5.2.3.3. Az amino-nitrogén és a szabad aminosavak meghatározása

Az aminosav-nitrogén alkalmazását sokan javasolták a hús romlottságának meghatározására, és a gyakorlatban ennek kapcsán **a ninhidrin pozitív anyagok** (α -aminosavak) kifejezés terjedt el, később azonban rájöttek, hogy ezek mennyisége csak laza összefüggésben van a romlottsági fokkal.

A romlottság mértékének meghatározására többen javasolták a szabad aminosavak analízisét. A vaddisznóról közismert, hogy a gyanús, illetve romlott hús kevesebb aszparaginsavat és több hisztidint, szerint, glicint, glutaminsavat, treonint, prolint, valint és leucint tartalmaz, mint a friss hús. Meghatározásukra kiválóan alkalmas az **ioncserés oszlopkromatográfia** (IEC). A taurin és hipotaurin

arányának mérése nem bizonyult igazán jó indikátornak, a citrullin mennyisége viszont jó indikátora a csirkehús bakteriális romlottságának, mert a friss csirkebőrben nem található meg, csak a bakteriális tevékenység következtében nő meg a mennyisége, és szoros az összefüggés a mennyisége és az összsíraszám között.

A piperidin a lizinbomlás során keletkezik a bakteriális tevékenység következtében, és jó indikátornak bizonyult az állottság vagy romlottság kimutatására. Ehhez hasonlóan **a β -alanin**, az aszparaginsav dekarboxilezési terméke sem található meg a friss szövetekben, és mennyisége még a 2 °C-os hőmérsékleten való tárolás során is folyamatosan nő, ezért **a frissesség indikátoraként alkalmazható** halból készült élelmiszerek esetében. A szulfhidrilcsoportok mennyiségét is alkalmazták a frissesség kimutatására.

5.2.3.4. Az aminosavak mérése

A biogén aminosavak, mint amilyenek a hisztamin, a tiramin, az agmatin, a kadaverin, a putreszcín, a spermin, a spermidin és a triptamin, jó indikátora a gyenge minőségű húsoknak, különösen a marhahúsoknak. Mennyiségük korábban jelzi a húsok romlását, mint a pH emelkedése. **A hisztamint különösen a halak frissességének ellenőrzésére alkalmazták**, a legtöbb esetben a tonhálnál. Mennyisége a halkonzerveknél szoros összefüggésben van a trimetilamin mennyiségével is. A rothasztó baktériumok különösen nagy mennyiségben produkálnak hisztamint, melynek mennyisége pozitív összefüggésben van a szabad hisztidinnel, mely a friss halban nem fordul elő, csak az autólízis következménye lehet. Azért is érdemes mérni, mert toxikus hatású vegyület, és elég nagy mennyiségben található a halakban és az erjesztéssel készült élelmiszerekben. A tiramin is veszélyes lehet, mely képzésében a tejsavbaktériumok is részt vesznek a szárazkolbász romlása során.

Az aminosavak jó indikátorai a disznóhús és a darált marhahús romlásának is. A hisztamintartalmat lehet papír- és rétegekromatográfiával, ioncserés vékonyréteg- és oszlopkromatográfiával vagy HPLC-vel mérni. Újabban monoklonális antitesteket is kifejlesztettek a hisztamin mérésére ELISA-val, és megállapították azt is, hogy **nincs keresztreakció a különböző biogén aminosavak mérése során.** A sertéshús és némely esetben a marhahús putreszcín- és kadaverintartalmát alkalmasnak találták a romlottság mérésére, melyek mennyisége szoros összefüggésben volt a szaggal és a kinézettel. A putreszcín szoros összefüggésben volt a baktériumszámmal, a kadaverin pedig jó indikátora volt a tárolás hőmérsékletének. Mások szerint a spermin és a spermidin nem jó indikátorai a romlásnak, mert mennyiségük változik a tárolás során, és ez igaz a hisztidinre is, melynek mennyisége nem nőtt meg a romlott húsban sem. Az organoleptikus tulajdonságok, a putreszcín és az 1,3-diamino-propán közötti szoros összefüggés jelzi, hogy e két anyag jó indikátora a frissességnek. A brojlerek húsanak analízise során mindkét anyag jó egyezést adott a romlottság fokával. Mivel a hisztamin, a putreszcín és a kadaverin mennyisége nő, a spermin és a spermidin mennyisége csökken a

romlás előrehaladásával, javaslatot tettek ezen vegyületek indexbe foglalására a romlottság fokának megállapításakor.

Az agmatin a tintahal frissességének jó indikátora, és mennyisége a tárolási idővel folyamatosan növe elérheti a 30 mg/100 g-ot, a 40 mg-os mennyiség pedig már előrehaladott romlásra utal. A putreszcin koncentrációja is nőtt a bomlás során. **A kadaverin alkalmas a lazac és a szivárványos pisztráng romlottságának jelzésére, a tiramin pedig a marhahús kezdődő romlásának kimutatására** fermentált élelmiszerekben. A biogén aminok jó indikátorai a hal és különböző tengeri eredetű élelmiszerek romlottságának kimutatására, és a biogén aminok szoros összefüggést mutatnak a szabadaminosav-tartalommal is.

5.2.3.5. Az indol meghatározása

Az indol a triptofán bakteriális bomlásának terméke, mely még a hűtőszekrény hőmérsékletén is végbemegy, és amely kiváló jelzőanyaga a romlásnak a halak és a kagylók esetében. Az indol mennyisége a felolvasztás után rohamosan nő fagyasztott termékek estében. Az indol meghatározására alkalmazzák a spektrofotometriát, a kolorimetriát, a HPLC-t és a fluorometriát. Szoros összefüggést találtak az **organoleptikus tulajdonságok, a kanszag, valamint az indol és a szkatol mennyisége között**, melynek során arra is rájöttek, hogy hasonló koncentrációban a szkatol szaga sokkal intenzívebb, mint az indolé.

5.2.3.6. A zsír bomlástermékeinek analízise

A különböző húsminták zsírtartalma 5–9% között változik. A zsírszövet teljes egészében triglicerideket tartalmaz, míg a többi állati zsiradékban kis mennyiségben foszfolipidek, szterinek, karotinoid pigmentek és zsíroldékony vitaminok is vannak. Ezen komponensek jelentősen változhatnak a tárolás során, és befolyásolhatják a hús szagát, ennek megfelelően az eltarthatóságát. Ezek a változások jól nyomon követhetők a szabad zsírsavak – melyeket a lipáz enzim szabadít fel az észterkötésekből – és a peroxidszám és savszám mérésével, az oxidatív avasodás – melyet a levegő okoz – és a ketonos avasodás – melyet a mikroorganizmusok okoznak – nyomon követésével.

Szabad zsírsavak

A szabad zsírsavakat (FFA) többen használták a tengeri eredetű élelmiszerek minőségének becslésére. Beszámoltak arról is, hogy a marhahús FFA-tartalma jelentősen megnőtt a nulla fokon történő tárolás alatt, ami kellemetlen, édes ízt kölcsönzött a húsnak. **A zsír peroxidszáma egy indukciós periódus után hirtelen emelkedik**, majd a maximum elérését követően csökken, ezért a hús minősítésére nehezen lehet felhasználni. A tiobarbitursav-szám (TBA) segítségével az oxidatív romlás mértékét lehet felderíteni, mely **méri a malonaldehidet is, az**

oxidatív romlás markerét. Szoros összefüggést állapítottak meg a TBA és a hús szaga között. Alkalmazzák még az oxidatív romlás követésére a Kreiss-tesztet, mely a floroglucin és a zsír reakcióján alapul savas körülmények között, ami vörös színű reakciót eredményez, mely kapcsolatban van az oxigénabszorpcióval és olyan bomlástermékekkel, mint az **epihidrin-aldehid vagy a malonaldehid**. A karbonil vegyületeket vagy kolorimetriásan, vagy a 280 nm-en mért abszorpcióval határozzák meg.

A szénhidrogének, köztük a pentán, a fagyasztva szárított disznóhús avasodásának mértékéről ad információt. Ezek a vegyületek kémiaiilag semlegesek, ezért könnyen eltávolíthatók az avas húsból. **A szénhidrogének közül a metán fordul elő legnagyobb koncentrációban a húspan, melyet a pentán, a propán és a bután követ.** A metán eredete az alanin, mely a Strecker lebontás során keletkezik, a pentán eredete pedig valószínűleg az aminosavak. A pentán egyébként nem felelős az avas szagért, csak a lipidoxidáció indikátora.

5.2.3.7. Nukleinsav-bomlástermékek

A nukleinsav bomlástermékei indikátorai lehetnek a húsromlásnak. Ilyen indikátor lehet az ATP, az ADP és az AMP, melyeket fordított fázisú HPLC-vel meg lehet határozni. Feltételezés szerint összefüggés lehet a hús frissessége és a bomlástermékek koncentrációja között. A hús tárolása során egy másik vegyület, az inozinmonofoszfát (IMP) koncentrációja jelentősen csökken, az inozin mennyisége a tárolás elején meredeken emelkedik, a hipoxantin mennyisége pedig a tárolás végén nő meg jelentékeny mennyiségben.

5.2.3.8. Egyéb módszerek a hús romlottságának kimutatására

A hús romlottságának kimutatására használják még a **szín és a pH mérését**, az **illó zsírsavak analízisét**, melyre kiválóan alkalmazható a kapilláris GC. Az illó zsírsavak közé tartozik az ecetsav, a propionsav, a vajsav, az izovajsav, a valeriánsav és az izovaleriánsav, valamint a kapronsav és az izokapronsav, melyek közül az ecetsav található legnagyobb mennyiségben az élelmiszerekben. A tejsav koncentrációja egy-két nappal a vágás után stabilizálódik, az ecetsav, a propionsav és a vajsav pedig hozzájárul a nem mikrobiális eredetű savanyú íz kialakulásához.

Az aminosavak, elsősorban a valin, az izoleucin és a leucin **illó metabolitjai**, melyeket különböző bakteriális eredetű romlás vált ki, a következők: Valinból keletkezik többek között a 2-metil-propanal, a 2-metil-propanol és a különböző konfigurációjú propánsavészterek, izoleucinból származik a 2-metil-butanal, a 2-metil-butanol, a 2-butanon és a különböző metilezett vajsavészterek, leucinból pedig a 3-metil-butanal, a 3-metil-butanon, a metilvajsav és annak észterei. Ezek a metabolitok mind megtalálhatók a hűtőszekrényben tárolt csirkehúspan, koncentrációjuk pedig arányos a bomlás mértékével.

A mikroorganizmusok illó metabolitjai

Általánosságban elmondható, hogy a baktériumos romlás során **a baktériumok anyagcseretermékei állottá, savanyúvá, bűdössé, azaz romlottá teszik a húst.** A fagyasztott marhahús illó komponenseit kondenzálva, majd gáz-folyadék kromatográfiával szétválasztva megállapították, hogy az illó komponensek között megtalálható a kén-hidrogén, a metil-etil-merkaptán, az acetaldehid, az acetone, a metil-etil-ke-ton, az etil-alkohol és a metil-alkohol, melyek közül különösen az etanolt javasolják a romlás fokának becslésére. Felhasználhatók még becslésre az ásványi anyagok és a kreatin bomlástermékei, ezeknek azonban nincs gyakorlati jelentőségük.

5.2.4. A hús és a hal minőségének műszeres mérése

Mivel esetenként nagy mennyiségű halat és húst kell minősíteni, a szenzoros minősítések, illetve a szag analízise terjedt el a gyakorlatban. A szenzoros minősítés megkívánja a képzett személyzetet, és ki kell zárni a szubjektivitást. Speciális, négy elektródból álló, a hús felületéhez kapcsolódó elektródokat használva **mind az ellenállás, mind a kapacitás könnyen meghatározható**, mely mérési adatokból következtetéseket lehet levonni a romlottságot illetően. Hal esetében a hullamerevség beálltáig mindkét tulajdonság gyorsan változik, majd a továbbiakban a változás lelassul. Az elektromos vezetőképességet a halakon kívül a sertéshús minősítésére is alkalmazták.

Az ultraibolya sugárzással történő megvilágítást a garnélarák frissességének analízisére használták, de a különbség az elfogadható és az elutasítandó csoportok között csak csekély volt.

5.2.5. A hústartalmú ételek minősítése

Közvetlenül a vágás után olyan komplex biokémiai folyamatok indulnak meg, melyek kapcsolatban vannak az izomszövet átalakulásával. Ezek a változások közvetlenül befolyásolják a hús minőségét, és szoros kapcsolatban vannak **az anaerob glikolízissel**, a pH-val és a hőmérséklettel, mely paraméterek együttesen hatnak a minőségre. A lassú glikolízis, a viszonylag alacsony pH és hőmérséklet szürkésrózsaszín külsőt, porhanyós struktúrát és viszonylag száraz kinézetet ad a húsnak. Ha a pH magas marad, csökkenése nem következik be, **a hús sötétvörös színű, kemény és száraz lesz**, ezek a **DFD-húsok**. Ellentétes esetben a gyors pH-csökkenés és a magas hőmérséklet **puha, sápadt és vizenyős húst (PSE)** eredményez, melynél nagy lesz a sütési vagy főzési veszteség. Normál körülmények között az alacsony pH és a magas hőmérséklet kombinációja PSE-húst eredményez. A PSE- és a DFD-hús évente az összes hús mintegy 5–6%-át érinti, melynek mennyiségét elsősorban genetikai szelekcióval, az állatok vágás előtti és a hús vágás utáni kezelésével lehet csökkenteni.

A minőség megállapítására használják a pH-, a csepegési veszteség- és a szín-elemzést, a kollagéntartalom mérését és a szabad aminosavak mennyiségét is. Az összes aminosav mennyisége, függetlenül a fajtól, konstans, **a szabad aminosavak mennyisége viszont kapcsolatba hozható a hús érzékenységgel**, például a pulykánál. A szabad aminosavak közül a leucin és az izoleucin nagyobb mennyiségben volt jelen a gyenge minőségű marhahúsban, míg néhány aminosav szoros kapcsolatot mutatott a hús színével és aromájával a sonka esetében. A szabad aminosavakat tanulmányozva megállapították, hogy a glutaminsav mennyisége szoros kapcsolatban volt az állapottal, a kinézettel és a porhanyóssággal. A főtt sertéshúsban a tirozin, a glutaminsav, az aszparaginsav és a szerin negatívan, a glicin pozitívan befolyásolta a hús illatát, a tirozin és a glutaminsav pedig az általános összbenyomást befolyásolta kedvezőtlenül. A nyers húsban a treonin szignifikáns összefüggést mutatott az összes nitrogénnel, az arginin a nem fehérje nitrogénnel, a glicin, a valin és a leucin pedig a kollagén mennyiségével. **A kollagén nagymértékben hozzájárul a hús funkcionális tulajdonságainak kialakításához**, mely a csont és a bőr fő fehérjéje, a kötőszövet elasztintartalma viszont alacsony, aminek nincs gyakorlati jelentősége. Az egyéb emlős fehérjékkel ellentétben a kollagén nagy mennyiségben tartalmazza a hidroxiprolin iminosavat, melynek mérése alapján a kollagén mennyisége meghatározható. Az előzőekben ismertetett módszerekken kívül javasolták még a húsminőség megállapítására az izombiopsziát, a vércsoport-meghatározást, a kreatin-kináz analízist és a halotán tesztet, melyek közül a két utóbbi a gyakorlatban is elterjedt.

5.2.5.1. A húsételek szennyezettségének kimutatása

A tengeri halaknál leggyakrabban a nyersolajjal, illetve olajszármazékokkal való szennyeződés fordul elő, melyeket tankhajók eresztenek a tengerbe vagy balesetekből származnak. GC-MS kapcsolt technika segítségével a szennyező szénhidrogének, legyenek azok alifások vagy aromások, könnyen kimutathatók. A szénhidrogének azokban a szövetekben rakódnak le nagyobb mennyiségben, melyek több zsírt tartalmaznak. **A gázolajjal történő szennyezésről is többször beszámoltak**, melyet követően a szennyező anyagokat spektrofлуorometriásan vagy vízgőz-desztillációt követően GC-vel mutatták ki. Még jobb, ha hőmérséklet-gradienssel programozott GC-t alkalmaznak, mert azzal a kis koncentrációjú szennyező anyagok is pontosan mérhetők. Ezzel a módszerrel a prisztán és a fitán is meghatározható, melyek arányából még a dízelolaj eredetére is következtetni lehet. Prisztánt gyakran mértek tengeri állatokból, illetve planktonokból. Ugyancsak gyakran mutattak ki halakból aromás szénhidrogéneket és olyan szerves klórvegyületeket, mint a hexaklór-benzol, a diklór-difenil-triklóretán, melyek a part menti üledékből kerültek a halakba. Ezeket a vegyületeket 10 µg/kg érzékenységgel lehet kimutatni folyadékkromatográfiával, fluoreszcens detektálással. E módszer alkalmas arra is, hogy vele poliklórozott bifenileket,

dibenzo-p-dioxint, dibenzo-furánt vagy tetraklór-dibenzo-p-dioxánt lehessen meghatározni.

A vágott áruban vagy a halakban gyakran találunk nagyobb mennyiségben nehézfémeket is, ugyanis a legtöbb ember által is fogyasztott tengeri lény képes még a **vízben kis koncentrációban előforduló nehézfémeket a testében akkumulálni**. A kagylók például 10 000-szer több cinket, 30 000-szer több kadmiumot és 14 000-szer több rezet tartalmaznak, mint a víz, amiben élnek. Ezek a mennyiségek már toxikusak az ember számára, és gyakran hányingert, hányást idéznek elő. A kadmium kis koncentrációban is akut toxicitást idézhet elő, és a réz is nagymértékben koncentrálódhat olyan élőlényekben, mint például a folyami feketehal. A mérgező nehézfémeket spektroszkópiás módszerekkel, atomabszorpciós spektrofotométer grafitküveltás üzemmódban vagy induktív csatolású plazmaemisszió tömegspektrométerrel kapcsolva lehet kimutatni és pontosan meghatározni.

Az előzőekben említett szennyező anyagokon kívül vizsgálják a bakteriális szennyeződés mértékét, melynek megállapítására sok gyors kémiai módszert dolgoztak ki. Az egészséges állatok védettek a baktériumok támadásával szemben, de a vágás után az addig háttérben lévő baktériumok kezdenek elszaporodni, és tevékenységükkel rontják a hús minőségét. A hús higiénés minősítésére alkalmazzák a **kataláz-aktivitást, mely a beteg állatoknál háromszor akkora, mint az egészséges borjú- vagy marhahúsban**, azért alkalmas a húsminőség meghatározására.

5.2.5.2. A darált húsok minőségének meghatározása

Az aprított, darált húsok minőségének meghatározása nehéz, mert az egyes húsrészeket nem könnyű egymástól megkülönböztetni. Legjobb indikátor az ilyen termékek minőségének analizésére a **triptofán- és a hidroxiprolin-tartalom mérése**, mert a triptofán a jó minőségű vörös húsokban, a hidroxiprolin pedig a több kötőszövetet tartalmazó húsokban fordulnak elő nagyobb mennyiségben, míg a simaizmok közbülső helyet foglalnak el e tekintetben. Ezen utóbbiak, mint például a tüdő, a gyomor, a vékonybél, olyan mértékben tartalmazzák a triptofánt, mintha a vörös húshoz 15%-ban kötőszövetet keverték volna.

A **kreatinintartalom alapján is meg lehet különböztetni az egyes húsfajtákat** egymástól, ugyanis a vázizom és a szívizom, valamint a nyelv messze a legtöbb kreatinint tartalmazza, ezeket követi a sertésgyomor, míg a vér, a kötőszövet, a máj és a belek viszonylag kis mennyiségű kreatinint tartalmaznak.

5.2.6. Húsadalékok és kiegészítők

Hogy a friss hús gyors színváltozását megakadályozzák, különféle adalékot adnak hozzá. Ilyen adalék lehet például a **salétrom**, mely **megakadályozza a jelen-**

tősszínváltozást, mert a hemoglobin és a mioglobin a megfelelő nitrózószármazékká alakul vele. A mennyiséggel vigyázni kell, mert a nagy mennyiség hatására a hús aszalódott hatást kelt, és a későbbi származékok veszélyesek is lehetnek az egészségre. Nagyon sok növényi festékanyagot is használnak a pácolt, fűszerezett húsok színének megőrzésére.

Sokféle töltőanyagot használnak a kolbászáruk készítése során. Ilyenek a száraz kenyérörlemény, a kukoricaliszt, a burgonyakeményítő, a sós keksz, a kétszersült hulladéka vagy a főtt rizs. Adnak hozzá szintetikus kreatinint is, hogy annak koncentrációja minél több hústra utaljon a kolbászban, de ennek mennyiségét a ^{14}C aktivitásának mérésével ki lehet mutatni, ez ugyanis a mesterséges, hozzáadott anyagban lényegesen kisebb, mint a természetesen.

Csicseriborsólisztet is gyakran adnak az olcsó, de jó minőségű kolbászokhoz, mely egy lágyabb textúrát kölcsönöz a húsnak, sajnos azonban a hús elszíntelenedését is okozhatja, ami még kifejezettebbé válik a hús nulla fokon történő tárolása során. A húskészítményekhez még zselatint, vért vagy vérlisztet, lépet és zöldség- vagy más, nem hús jellegű fehérjéket is hozzáadnak. Ezek az adalékok nem csökkentik a termék táplálkozási értékét vagy a textúrát, esetleg az ízt és az illatát, a lényeg az, hogy **a drága állati eredetű alapanyagot egy lényegesen olcsóbbal cserélik ki**. Közkedvelt a szójával való kiegészítés, melynek hatására jelentősen megnő a termék glükózamin-tartalma, mely a kimutatás alapja. Ha a triptofántartalom magas, a hidroxiprolin-tartalom pedig alacsony a magas glükózamin-tartalom mellett, akkor szinte biztos, hogy a készítményt nem állati eredetű fehérjével egészítették ki. Ugyancsak magasabb a glükózamin-tartalom, ha a húst belső szervekkel, vérplazmával, tej- vagy tojásfehérjével egészítették ki.

A kolbászkészítés során az olyan kiegészítők, mint a szójaliszt, szójaizolátum, zsírszegény tejpor, tejeredetű koprecipitátumok, növényi eredetű fehérjék, javíthatják az olyan funkcionális tulajdonságokat, mint az emulzióképző kapacitás, az emulzióstabilitás és a vízkötő képesség.

A mindennapi gyakorlatban különböző fajok hasonló színű húsát keverik össze azért, hogy olcsóbb hússal nagyobb gazdasági előnyhöz jussanak. Rendszeresen keverik a marha- és a lóhúst, a marha- és a birkahúst vagy a baromfi- és a sertéshúst, mert a hasonló kinézet miatt nehéz őket egymástól megkülönböztetni.

5.3. Gabonafélék, szennyeződések és hamisítások kimutatása

A **gabonafélék** a legközönségesebb és a világon **a legelterjedtebb kultúrnövények**, melyeket szinte mindenütt termesztene, és az élelmiszerek alapját képezik mindenütt a világon. **Közéjük tartozik a búza, az árpa, a rozs, a rizs, a kukorica, a cirok és a különböző típusú kölesfajták.** A búza a világon a legna-

gyobb mennyiségben termesztett gabonaféle, melyet főként kenyérként és péksüteményként fogyasztunk, de számtalan más egyéb terméket, például nagyon sok tésztafélét is készítenek belőle. A rozs a második legnagyobb mennyiségben termesztett kenyérgabona, melynek mennyisége azonban alig éri el a búza mennyiségének 10%-át. A rizs a világ második legfontosabb gabonanövénye, Ázsiában a legelterjedtebb élelmiszer, ahol 90%-át termelik a világ össztermelésének. A zab, az árpa, a kukorica és a cirok takarmánynövények, de a világ több részén élelmiszerként is fogyasztják őket, **az árpának pedig nagy jelentősége van mint sörgyártási és egyéb alkoholtartalmú italalapanyag.** A kukorica alapélelmiszer Dél-Amerikában és ugyancsak fontos alapanyag a kukoricaolaj, a keményítő és a kukoricadara gyártásában, és újabban bioalkoholt is készítenek belőle, mellyel a benzint helyettesítik. A kölest és a cirkot a szegény ember eledelének tartják, mely azonban az összes gabonanövény 14%-át teszi ki Indiában.

A gabonanövények mellett a második legfontosabb növényi élelmiszer-alapanyagot a **hüvelyesek** jelentik, melyek közé tartozik többek között a bab, a borsó és a lencse. Ezek **magas fehérjetartalmú növények**, 14–45% közötti fehérjetartalommal. Jelentőségében közülük is kiemelkedik a földimogyoró és a szójabab, melyek a fehérje mellett még sok olajat is tartalmaznak. A **szója kiemelkedik magas lizintartalmával** is, de még nála is gazdagabb ebben az esszenciális aminosavban az **amarant**, a maga 13–16% lizintartalmával.

A **gabonanövények** hasonló összetétellel és hasonló tápértékkel rendelkeznek. **Keményítő- és nyersrosttartalmuk magas, fehérjetartalmuk pedig 5–15% között változik**, és kisebb mennyiségben tartalmaznak zsírt és nem keményítőszert poliszacharidokat. A búza egyik nagyon fontos tulajdonsága a keménység, mely jelentős mértékben megszabja a búza őrlési tulajdonságait és a végtermék felhasználhatóságát. A kemény búzából nagyobb mennyiségű, megfelelő színű liszt állítható elő, magas vízkötő kapacitással, melyből kiváló minőségű kenyér állítható elő. A lágy búzából készült liszt sütemények és kétszersültek előállítására használható. A különböző gabonafélék jelentős mértékben különböznek fizikai-kémiai tulajdonságaikat illetően, ami megszabja további felhasználhatóságukat.

5.3.1. Szennyeződések a gabonában

A gabonák a betakarítás folyamán gyakran szennyeződnek különféle gyomnövénymagvakkal, amelyek, ha nagyobb mennyiségben kerülnek a lisztbe, akár mérgező hatást is kifejthetnek.

5.3.1.1. A különféle gabonakeverékek és azok hatása a tulajdonságokra

A legtöbb tésztaféle normális körülmények között durumbúzából készül, melyet a címkéjén is jelölnek. A durumbúza a termesztés, a betakarítás és a tárolás során **nem durumbúzafajtákkal is keveredhet, melyek megváltoztatják annak tulaj-**

donságait. Mivel ez jelentős hatással van a felhasználhatóságra, és az olcsóbb búzával a drágábbat hamisítják is, módszereket dolgoztak ki a durum és a nem durum búza megkülönböztetésére.

A megkülönböztetés alapja lehet a **búza fehérjetartalma**, melyet oldhatósága szerint különböző csoportokba sorolnak. A vízben oldódó albuminok és a sóoldatban oldódó globulinok együttesen a fehérje 15%-át teszik ki, melyek a búza nem glutén frakcióját alkotják. Etanolban oldódnak a **prolaminok**, míg savban pedig a **glutelinek**, melyek együttesen a búzafehérje 85%-át teszik ki, és amelyek a **gluténfrakciót alkotják**. A búza prolaminjait és glutelinjeit gliadinoknak és gluteninnek hívják. A gliadinfrakció PAGE-vel, a gél felbontó képességének függvényében, 20–40 különálló fehérjefrakcióra bontható. Még a gyengébb felbontás esetében is legalább négyféle csoportot, α -, β -, γ - és ω -gliadint lehet kimutatni, melyek jellemzőek a búzafajtákra, és amelyeket ezen fajták azonosítására lehet alkalmazni. Az elektroforetogram ujjlenyomatszerűen jellemző a búzafajtára, aminek alapján, ha glutént adnak a durum búza tésztafához, akkor az normál elektroforetikus módszerrel vagy immunológiai analízissel kimutatható.

Az oldható fehérjék elektroforetogramját a különböző kemény vagy lágy búzafajták azonosítására vagy megkülönböztetésére lehet felhasználni, és alkalmas a különböző genotípusú fajták szétválasztására is. Amennyiben a γ/β -gliadin frakcióban több mint egy csík található, az már jelzi, hogy a durum búzáat közönséges fajtával keverték össze. Ezzel a módszerrel 50 g/kg-nál nagyobb mennyiségű hamisítás kimutatható, de a módszer alkalmazásának gátat szab a viszonylagos bonyolultsága és a felkészült személyzet szükségessége, ezért csak akkor alkalmazzák, ha nincs egyszerűbb módszer a probléma megoldására. A legtöbb módszer, mely kiváló a gluténfehérjék szétválasztására, munkaigényes, és esetenként nehéz a fehérjefrakciók beazonosítása. Kiemelkedik közülük a **kapilláris elektroforézis**, mely a mozgó határfelületek elvén alapszik, melynek során a molekulák egy 20–75 μm átmérőjű, pufferrel töltött szilikoncsőben mozognak a töltésükkel ellentétes pólusok felé. A **gliadinfrakciók kapilláris elektroforézissel történő szétválasztása lehetővé teszi a búzafajták megkülönböztetését** és ma már rutinszerűen alkalmazható a minőség becslésére is. Ezzel a módszerrel, különböző porusméretű poliakrilamid sziták alkalmazásával, a **különböző molekulatömegű glutenin alegységek egymástól elválaszthatók**, és az eredmények szoros összefüggésben vannak a sütőipari minőséggel. A módszer alkalmas a különböző rizsfajták megkülönböztetésére is.

Az IEF pontos eredményt ad a durum búzához kevert nem durum búza kimutatására a 0–20% tartományban, ennél nagyobb koncentrációnál azonban a becslés hibája sokkal nagyobb. A módszer alkalmatlan arra is, hogy kis mennyiségű durum búzáat ki tudjon mutatni a sima búzalisztból, és alkalmatlan 80 °C-nál nagyobb hőmérsékleten kezelt termékek analízisére is. A specifikus antitesteket tartalmazó kecskeszérum segítségével **immunodiffúziós módszerrel** a fehérje-extraktum albuminfrakciója alapján **5% lágy búza a durum búzában kimutatható**.

tó. Ezen túl ajánlják még a ω -gliadin meghatározását elektroforézissel, RP-HPLC-vel és immunoassayjel a durumbúza beazonosítása során. A vízdíszható fehérjék RP-HPLC analízise megfelelő pontossággal és reprodukálhatósággal alkalmas 1% búzaliszt durumbúzában történő kimutatására.

GC-s módszereket is alkalmaztak a lágy búza kimutatására durumbúzából. Alkalmazták ezen a túl a spektrofotometriát tésták analízisére, és a közeli infravörös spektroszkópiát a téli és a tavaszi búza szétválasztására. A keményítő-szemcsék méretét és a szterolok mennyiségét is alkalmazták megkülönböztetés-re, mert a szitoszterol-palmitát a lágy búzában, a koleszterol-palmitát pedig a kemény búzában fordul elő. Az **ásványi anyagok**, különösen a nitrogén, a magnézium, a kalcium, a mangán, a kálium és a cink is **megfelelő információt adhat a búzalisztek megkülönböztetésére**, ugyanis a keménybúza és a belőle készült liszt is több nitrogént, magnéziumot, kalciumot, cinket és mangánt, míg a lágy búza több káliumot tartalmaz. A Mg/K arány szignifikánsan magasabb a kemény búzánál és a belőle készült lisztnél, ezért ezt az arányt széles körűen alkalmazzák a különféle búzafajták és búzalisztek megkülönböztetésére.

Az **α -amiláz inhibitor aktivitás mérése** is a megkülönböztetés alapja lehet, mert az α -amiláz inhibitor jelen van a búzában, a rozsbán, a tritikálében és a kölesben, de hiányzik a rizsből, az árpából, a kukoricából és a durumbúzából. A **polifenol-oxidáz alapján történő megkülönböztetés** alapja az, hogy ez az enzim sokkal kisebb aktivitást mutat a durumbúzában, mint az egyéb búzaféléknél. A tirozinázteszt tökéletesen alkalmas a durumbúzához kevert kenyérbúza kimutatására, mely harminc perc alatt eldönti, hogy kevertek-e a durumbúzához más fajtaból származó lisztet, ezért ez a módszer tökéletesen alkalmas a rutinszerű minőség-ellenőrzésre.

A komputer vezérelte lézerszkennelő módszer alkalmas a csírázott búzamagok kimutatására a csírázatlan búzából, és alkalmas erre a megemelkedett α -amiláz-szint mérése is.

5.3.2. A különféle rizsfajták megkülönböztetése

Az élelmiszerek előállítása során különféle rizsfajtákat használnak, melyek mind méretükben, mind technológiai és táplálkozási értékükben jelentősen különböznek egymástól. A fogyasztók országonként, sőt egy országon belül vidékenként is más és más rizsfajtákat részesítenek előnyben, és elképzelhető, hogy a kedveltségi sorrend ugyanazon rizsfajták között régióként is változik. A rizsfajtákat az összes és a forró vízben oldható amilóztartalom alapján kilenc fajtaba sorolták, és a különböző élelmiszerekhez más és más fajtát tartanak alkalmasabbnak. Az amilóztartalom túl fontos tulajdonság az aroma, az íz és az illat, mely alapján is lehetséges különbséget tenni köztük.

5.3.3. Gabonafélék, hüvelyesek és keverékeik

Mindkét csoport a 20 fehérjeépítő aminosavat tartalmazza, de **vannak olyan aminosavak vagy származékok, amelyek csak egyik csoportban fordulnak elő**, és amelyek analógjai a fehérjeépítőknak. Ilyen analógok például a prolin és a pipekolinsav, mely utóbbi eggyel több metilén csoportot, és a prolin és az azetidin 2-karbonsav, mely eggyel kevesebbet tartalmaz. A pipekolinsav a legtöbb hüvelyesmagban megtalálható, míg az azetidin 2-karbonsav a liliomfélékben fordul elő. **A pipekolinsavat a hüvelyesmagliszt gabonalisztben történő kimutatására használják.**

A purin- és pirimidin-bázisok az élőlények természetes alkotórészei, van azonban a növényekben **néhány olyan bázisszármazék, mely azonosításra szolgálhat.** Az egyik ilyen származék az **5-metil-citozin, mely a búzacsíra DNS-ében fordul elő, amely alkalmas a csírázás kimutatására.** A vicin és konvicin kis molekulatömegű pirimidin-glikozidok, melyek a bab- és borsófajok azonosítására szolgálhatnak. A búzához kevert rozslisztet a rozs keményítőtartalmának eltérő voltából és vízben való viselkedéséből lehet megkülönböztetni. A csicseriborsólisztet a sima borsólisztől a fehérjék elektroforetogramja alapján lehet megkülönböztetni a csicseriborsóban található extra csík alapján. A 25–30 fehérjecsíkból van kb. hat, mely csak a csicseriborsóban nem fordul elő, és amelyek alapján azok hozzákeverése kimutatható.

5.3.4. A minőséget befolyásoló indexek a búza- és egyéb liszteknél

A kenyérfélesztés az elasztikus, gázmegtartó tészta készítésén alapul, melyet a hidratáció és a gluténtartalom befolyásol. A liszt hamu- és fehérjetartalma nincs összefüggésben a sütőipari minőséggel, bár az utóbbi időben összefüggést mutattak ki a sütőipari paraméterek és a liszt cinktartalma között. **A cipó térfogata függ a fehérjetartalomtól,** az endospermium hamutartalma viszont nincs összefüggésben a liszt sütőipari minőségével. **A sütőipari minőség és a glutén/gliadin arány között találtak összefüggést,** és különösen **a lisztben lévő szabad szulfhidrilcsoportok növelték a tészta erősségét és a cipó térfogatát.** A nagy molekulatömegű glutén alegységek (HMW-GS) hatását méretkizárásos kromatográfiával is meg lehetett erősíteni. A liszt minőségjavulását a tárolás első hónapjaiban a szulfhidrilcsoportok diszulfiddá történő oxidációjával tudták magyarázni. A HMW-GS, a tészta minőségét legjobban meghatározó fehérjefrakció, a megfelelő antitesthez szelektíven kötődik, ezért ELISA-technikával viszonylag könnyű meghatározni mennyiségét.

A HPLC-t jó hatásfokkal tudták alkalmazni a **glutenin komplex meghatározására** a glutenin-aggregátumok ultrahangos szétbontását követően. A HPLC-analízissel hasznos információk nyerhetők a gliadin/glutenin komplex arányára, de a módszer költséges, ezért az antigén-antitest reakción alapuló módszerek hatékonyabbak e tekintetben. Az infravörös spektroszkópiát is alkalmazták a búza

minőségének meghatározására közvetlenül a tárolás megkezdésekor, melyet követően összefüggést tudtak megállapítani a cipó térfogata és a fehérjetartalom között. A búza korára, felhasználhatóságára a hamutartalomról és a diasztáz enzim aktivitásából tudtak következtetni, mely a tárolás elején magasabb, mint a tárolás későbbi szakaszában.

5.3.5. A gabonafélék és a belőlük készített termékek mikrobiológiai minősítésére szolgáló módszerek

A világ gabonatermelésének kb. 2%-át a mikroorganizmusok teszik tönkre, melyek változásokat okoznak a zsír-, a fehérje-, a szénhidrát-, az ásványi anyag- és a vitamintartalomban. A biokémiai változásokat okozó **raktári penészek lipolitikus, proteolitikus és szénhidrátbontó aktivitással rendelkeznek**, és változásokat okoznak a vitamin- és ásványianyag-tartalomban. Nyilvánvalóan a nedvesség és a relatív páratartalom jelentős mértékben befolyásolja az előzőekben említett változásokat. A kukorica vagy a köles ilyen gombákkal való fertőződése megnöveli a termény savasságát, mert ezek a gombák jelentős mennyiségben szintetizálnak savakat, és 15 napon belül jelentős emelkedést okozhatnak a savasságban, ezért a **savak mennyisége jó indikátora a mikrobiális fertőzöttségnek**. A liszt, a tészta és a kenyér savasságát jó indikátornak tartják az alapanyag minősége, sütési tulajdonságai és a csírázás megkezdődése szempontjából is, de a módszer nem elég megbízható.

A **mikotoxinokkal** és az allergénekkal való fertőzöttség is állandó veszélyforrást jelent. A mikotoxinok a mikroszkopikus gombák anyagcseretermékei, melyeket speciális körülmények között termelnek, és amelyek **súlyosan veszélyeztethetik mind az állatok, mind az ember egészségét**. A gabonanövények és a földimogyoró aflatoxinnal való szennyezettsége a rendkívül érzékeny ELISA-technikával könnyen becsülhető. Az ochratoxin a búzában, az árpában és a kukoricában magas páratartalom esetén fordul elő, míg a zearalenon a fuzáriummal fertőzött búzában képződhet. A deoxinivalenolt is a fuzáriumgombák szintetizálják, mely a sütés hőmérsékletén sem bomlik el.

Az **ergoszterin** jelenléte az olyan gabonafélékben, mint a búza, a köles, az árpa, a kukorica vagy a repce, **egyértelműen bakteriális fertőzésre utal**, ezért analízisét széles körűen alkalmazzák a fertőzöttség kimutatására. Az ergoszterol a legfontosabb citoplazmamembrán-alkotó a gombáknál, ezért a gombás fertőződés kimutatására használják. **A módszer az ergoszterin és a jód közötti reakción alapszik**, melynek során egy intenzíven, a zöldes-kék tartományban fluoreszkáló vegyület keletkezik a hosszabb hullámhosszú ultraibolya fénnel történő besugárzás hatására. Kénsavval vagy sósavval kezelve a foltot, a szín a zöldeskérről ragyogó zöldre vált.

Illó komponensek is használhatók indikátorként a mikrobiális fertőzés kimutatására. A gabona szaga is elárulhatja a mikrobiális fertőzöttséget, de néhány,

baktériumok által szintetizált illó anyagnak nincs karakterisztikus szaga, ezért az ilyen módszer nem megbízható. **Jól használható az illó anyagok kimutatására a headspace gázkromatográfia**, mely megbízhatóan és nagy érzékenységgel tudja a különböző illékony vegyületeket kimutatni és meghatározni. Még jobb és megbízhatóbb eredményeket ad az illó vegyületek azonosítására, ha a gázkromatográfhoz tömegspektrométert csatolnak, és ezzel a módszerrel még **a fertőző mikroorganizmusok is azonosíthatók a jellegzetes anyagcseretermékeik alapján**. Ez utóbbi módszer drága és időigényes, míg a headspace analízis viszonylag gyors és könnyen kivitelezhető. E műszeres módszerekkel a 3-metil-1-butanolt és az 1-oktén-3-olt, valamint a 3-oktanolt mint a mikroflóra által termelt illó anyagokat tudták azonosítani. A 3-metil-1-butanolt a búza szellőztetése során is ki lehetett mutatni. Az előzőekben felsoroltak mellett még alkoholokat, alkánokat és terpéneket is ki tudtak mutatni a mikrobiális romlást követően. A mikrobiális romlás első szakaszában főként a 3-metil-1-butanol koncentrációja nő meg jelentős mértékben.

Az **anyarozs** egy olyan növényi betegség, melyet a Claviceps törzsbe tartozó gombák okoznak, és amely a megtámadott növény termésén fekete, **varjúkörömhöz hasonló képletet hoz létre**. A rozs, az árpa, a tritikálé, a zab és a bajra is megfertőződhet ezen az úton. Az anyarozs **toxikus alkaloidákat**, ergokrisztint, ergometrint vagy ergonovint, ergozint, ergotamint, ergokarmint és L-ergokriptint tartalmaz, melyek **a testbe kerülve számos betegséget okozhatnak embernek és állatnak egyaránt**, melyet közös néven ergotizmusnak hívnak. Az anyarozs legnagyobb része a tisztítás során eltávozik a mag felületéről, **de a korpa vagy a teljes kiőrlésű liszt jelentős koncentrációban tartalmazhatja a mérgező alkaloidákat**. Mások szerint a rozsliszt nagyobb koncentrációban tartalmazza az alkaloidákat, mint a korpa. HPLC-vel, fluoreszcens detektálással az anyarozs-alkaloidok ma már tökéletesen szétválaszthatók és meghatározhatók.

Esetenként jelentős lehet a gabonanövények rovarral vagy bábjaival való fertőzöttsége is. A gabonaszizsik nyála például tartalmaz fehérjebontó enzimeket, melyek a glutént lebontva olyan lisztet produkálnak, amiből csak gyenge minőségű, kis térfogatú kenyeret lehet sütni. Az előzőek miatt **a gabona rovarokkal való fertőzését meg kell akadályozni**, a fertőzött tétteleket a fogyasztásból ki kell zárni. A fertőzött gabonából készült liszt a részben lebontott fehérje révén, méretkizárásos kromatográfiával analizálva, speciális fehérjefrakciókat produkál, megelőzve az α -gliadinokat. Az α - és β -amiláz, valamint a lipázaktivitás növekedése ugyancsak jelzője a szizsikkal történt fertőződésnek.

A rovarfertőzés megnöveli a húgysav és egyéb rovaranyagcsere-termékek mennyiségét a lisztben, csökkenti a fehérje mennyiségét és annak emészthetőségét, és növeli a nem fehérje nitrogén mennyiségét. A tárolás alatt minimális változások történnek az összesnitrogén-, a fehérjenitrogén-, a nemfehérjenitrogén- és húgysavtartalomban. **A húgysavat** a legfontosabb rovaranyagcsere-termékeknek tekintik, melynek **mennyiségéből a rovarfertőzésre nagy biztonsággal**

lehet következtetni. A húgysavat enzimatikus, kolorimetriás, vékonyréteg-kromatográfiás és HPLC, amperometriás detektálással, módszerekkel lehet mérni, melyek közül a legérzékenyebb és legmegbízhatóbb ezen utóbbi.

5.4. Zöldségek, gyümölcsök és belőlük készült élelmiszerek

A zöldségek és a gyümölcsök elengedhetetlen összetevői a kiegyensúlyozott étrendnek, melyek jelentős mértékben hozzájárulnak az élelmiszerek ízéhez és aromájához, a rostszükséglethez, és különösen jelentős vitamin- és ásványi-anyag-tartalmuk. A gyümölcs- és zöldségfogyasztás változatossá teszi a döntően gabonán és állati eredetű élelmiszereken alapuló étrendünket. A különböző országokban olyan fajtákat is fogyasztanak, melyet csak szűk körben ismernek és amelyek jelenleg csak helyi jelentőségűek. Az utóbbi évek intenzív kertészeti kutatásai olyan új fajtákat hoztak létre, melyek a világ különböző régióiban, eltérő klimatikus és talajviszonyok között, eltérő évszakokban, így szinte az év minden szakában eljutnak a fogyasztókhoz. **Az eltérő termesztési körülmények miatt más ezen élelmiszerek összetétele,** íze, tápértéke, és természetesen más az áruk is a piacon, hisz azt meghatározza a termesztés módja, a vidék helye, ahonnan származnak, az egységes kinézet, a szín, az aroma és az íz. Néhány gyümölcs és zöldség közvetlenül a termelőtől kerül a fogyasztó asztalára, **némelyeket hosszú úton szállítanak legtöbbször hűtött rakterekben,** egyeseket pedig előzetes feldolgozást követően hoznak forgalomba, néhány pedig gyümölcs húsként, gyümölcsléként, édességként, savanyúságként, almaborként, borként vagy olyan terméként kerül a fogyasztóhoz, amelyek további otthoni feldolgozást igényelnek.

Az eltérő környezet azonban maga után vonja annak kockázatát, hogy **a gyümölcs és a zöldség szennyezett lehet peszticidmaradékokkal,** esetenként tartalmazhat sugárzó anyagokat, vagy **olcsóbb termékekkel hamisíthatják őket,** és a mesterséges érlelés is befolyásolhatja a minőséget. Különösen a feldolgozott termékeket hamisíthatják olcsóbb, de hasonló anyagokkal, éretlen vagy túlérett termékekkel, szerves savakkal, cukrokkal, sűrítőkkel, mesterséges szín- és aromaanyagokkal és konzerválószerrel.

A félig vagy teljesen feldolgozott termékek minősége függ a technológiától, hogy a maximális haszon érdekében milyen fokú darabolást, préselést, kinyerési eljárásokat alkalmaznak, hogy a készítményt a héjból vagy a gyümölcshúsból állították-e elő, és hogy rostanyagok milyen mértékben találhatók a végtermékben. Alkalmaztak-e enzimeket, cellulázt, amilázt vagy pektinázt a nagyobb kitermelés érdekében, amit gyakran tesznek az alma, a guava és a banán gyümölcslevek esetében. A gyümölcshús vagy a gyümölcslé összetétele jelentős mértékben függ az érettségi foktól, az évszaktól, a termesztés helyétől és a termék kinyerésének módjától. A citrusfélék héja és magja, bekerülve a gyümölcslébe, annak keserű ízt kölcsönöz. A gyümölcslevek minőségét meghatározza a savasság és a pH, a

cukrok fajtája, a keményítő és az egyéb poliszacharidok, a pektin, a karotinoidok és az egyéb színanyagok, az esszenciális olajok, a fenolos komponensek és például az aszkorbinsav mennyisége.

A konzisztencia függ a pektin-, a keményítő- és az egyéb poliszacharid-tartalomtól. Mindegyik fajtának különböző változatait állították elő a világ különböző részein, amelyek eltérő tulajdonságokkal jellemezhetők. Esetenként víz hozzáadása is szükséges lehet a folyékony frakció maximális kinyerése érdekében. Az édesség és a savanyúság visszaállítása miatt savakat, illetve cukrokat, a viszkozitás visszaállítása miatt pedig egyéb anyagokat kell az ilyen extraktumhoz adagolni, és esetenként tesznek hozzá tartósítószeret, benzoesavat vagy kén-dioxidot is. Gyümölcslé-koncentrátumok előállításánál hő- és vákuumkezelést alkalmaznak, melynek során ügyelni kell a barnulás elkerülésére és a hőkezelés során előforduló bomlási folyamatok minimalizálására. A hőkezelés során a természetes aroma egy része elvész, karamellizáció történik, főtt íz jelentkezhet, illetve keserű íz alakul ki a déligyümölcslevek esetében. Mivel a koncentráció során az aroma egy része elvész, azt friss aromával pótolni kell.

A kereskedelmi forgalomban lévő gyümölcsleveket legtöbbször érzékszervi bírálattal minősítik, melynek során illatát és ízét értékelik. A szubjektív minősítés mellett **az analitikai kémia fejlődésével egyre inkább terjednek az olyan objektív műszeres minősítések**, amelyek a kémiai összetételt, a fizikai és reológiai tulajdonságokat, a nyomelemeket és az enzimeket mérik, a fehérjékre pedig az elektroforézist, az izoelektromos fókuszálást és az immunológiai módszereket alkalmazzák, melyek összességében lehetővé teszik a vizsgált zöldség vagy gyümölcs korrekt minősítését.

5.4.1. A gyümölcs- és zöldséglevek minősítésére alkalmas vizsgálatok

A gyümölcs- és zöldséglevek minősítésére fizikai, kémiai, biológiai és szenzoros vizsgálatokat alkalmaznak. Gyümölcsléknél a legfontosabb minősítési tényezők a viszkozitás, a szín és a barnulás mértéke, a természetes vagy főzött aroma vagy íz jelenléte, néhány esetben a keserű íz, a kémiai paraméterek közül pedig legjelentősebbek az összes és a redukáló cukortartalom, a savasság és a pH, valamint az aszkorbinsav-tartalom. Leggyakrabban az olyan kis mennyiségben előforduló anyagokat alkalmazzák a minősítésre, mint a szervesetlen sók, a nitrógentartalmú összetevők, a polifenolok, a vitaminok és a pigmentek.

A citrusfélék gyümölcseleinek hamisítása a világon mindenütt probléma. A gyümölcsléhez adhatnak vizet, cukrot, aromákat és a ízfokozókat, idegen gyümölcseket és más egyéb, hamisításra alkalmas anyagokat. Többen fagyasztott és felengedett gyümölcslévet adtak a frisshez, sokszor narancskoncentrátumokból és poliszacharidokból, keményítő-hidrolizátumokból és esszenciális olajokból állítottak elő folyadékot, melyet a friss gyümölcsléhez kevertek. Az ilyen levek összetételét meghatározva és többdimenziós statisztikai analízist

alkalmazva, az ilyen hamisításokat viszonylag egyszerű kimutatni. Különösen a citrus- és az ananászlevelek analízisekor alkalmaztak regresszióanalízist, diszkriminanciaanalízist és alakfelismeréses matematikai statisztikai analíziseket. Jó példa erre a **narancslé analízise**, melynek során **43 illékony komponenst határoztak meg HPLC-vel**, 10 nyomelemet induktív csatolású plazmaemisszióval, melynek során a hamisítást könnyen, nagy biztonsággal le tudták leplezni. Ilyen sok mérési adat esetén különösen jól használható az **alakfelismeréses matematikai statisztikai analízis**, melynek segítségével az eredeti és a hamisított minták különböző csoportokba sorolhatók, sőt a hamisítás mértékéről is lehet információkat kapni. E módszerek segítségével a különböző minőségű gyümölcsleveket is szét tudták választani. **Különbséget tudtak tenni a friss vagy a sűrítményből készített gyümölcslé között.** Az azonosítás biztonságát tovább növelte, amikor a minősítésbe gázkromatográfiás headspace analízissel mintegy **16 különféle illóanyagot tudtak azonosítani.**

A citrusfélék esetében a hamisítást az organoleptikus, a fizikai és a kémiai tulajdonságok analízisét követően lehet kimutatni, melynek során az eredeti narancs-, citrom-, grapefruit- és mandarin-gyümölcslevelek tulajdonságait hasonlítják a hamisítottéhoz. Az analitikai módszerek közül korábban használták a papírkromatográfiát, újabban viszont sok esetben a HPLC-t használják a cukrok, főként a glükóz, a fruktóz és a szukróz, illetve a szerves savak, az almasav és a citromsav meghatározására. Széles körben alkalmazzák a gázkromatográfiát és a cellulóz acetátmembránon, valamint a poliakrilamidgélben végzett elektroforézist és izoeletromos fókuszálást az aminosavak (prolin, arginin, γ -amino-vajsav) és a fehérjék meghatározására. Vizsgálják ezen kívül a gyümölcslevelek savas tulajdonságait, a pentóztartalmat, az inorganikus komponenseket, a különböző aminosavakat és azok származékait a gyümölcslevelek, elsősorban a citrom-, a narancs- és a grapefruitlé hamisításának kimutatására, és ugyanezek a módszerek alkalmasak a málna-, az eper-, a vörösfonya- és a feketeribizli-levek azonosítására is. A kémiai mátrix módszer alkalmazásakor olyan komponenseket határoznak meg, mint az L-almasav, a klorogénsav, a fruktóz/glükóz arány, a szukróz, a prolin és a szorbitol, melyek jelzői lehetnek az alma- és gyümölcslevelekben olyan természetű hamisításoknak, mint pl. a vízzel történő hígítás, cukor- vagy magas fruktóztartalmú kukoricaszirup vagy répacukor, esetleg mosóvíz hozzáadása.

A cukorprofil-analízis mellett használják az UV spektrumokat és a fémanalízist, az izotóp- és az izotóparány-analízist, és GC-MS technikát alkalmaztak arra, hogy nyomnyi mennyiségű olyan szerves anyagokat mutassanak ki a hamisított gyümölcslevekből, melyek az eredetiben nem, hanem csak pl. a répacukor/invertcukorban fordulnak elő. **Az aminosav-összetétel és az aminosavak aránya különösen jó indikátora a hamisításnak**, amikor például az alma-, a narancs-, a grapefruit- vagy a pirosszőlő levekhez fehérjehidrolizátumot is kevernek. Az UV és a látható abszorpciós spektrum, a fluoreszcens spektrum is alkalmasnak bizonyult annak kimutatására, hogy az eredeti narancsléhez gyümölcshús mosó-

vizet kevertek. A közeli infravörös spektroszkópia azért bizonyult jó módszernek a hamisítások felderítése során, mert minden lékésítésre alkalmas gyümölcsnek megvan az a speciális infravörös spektruma, mely csak rá jellemző, és mellyel a hamisítás tényét ki lehet mutatni. A Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia is nagyon alkalmas például olyan feladatok megoldására is, hogy friss vagy fagyasztott és kiolvasztott gyümölcsöt használtak-e fel, adatokat szolgáltat a gyümölcs érettségének fokára, a gyümölcsfajokra és -fajtákra, ami különösen jelentős lehet az alma esetében, és arra, hogy kénezés történt-e a lé előállítása során. A fizikai módszerek között széles körben alkalmazzák a refraktométereket, mint amilyen az Abbe refraktométer, gyümölcslevek minőségének ellenőrzésére.

5.4.1.1. Szerves savak és egyéb kiegészítők

A gyümölcslevek hamisításánál jól bevett módszer, hogy azokat idegen, olcsóbb gyümölcslevekkel, cukoroldatokkal vagy szerves savakkal elegyítik. Amennyiben kristályos üledék található a gyümölcskoncentrátum alján, az szinte biztosan hamisított. A kereskedelmi forgalomba hozott citromlevet a savasság alapján minősítik, ezért, mivel a mesterségesen előállított citromsav sokkal olcsóbb, mint amit gyümölcsökből állítottak elő, kézenfekvő a mesterséges citromsavval való hamisítás. **A narancsolajat és a β -karotint is előszeretettel alkalmazzák a hamisítás elfedésére**, és erre jó alapanyagok az olyan magas karotintartalmú zöldségek, mint például a sárgarépa és annak leve, vagy a különböző, nagy karotintartalmú virágok extraktuma. Annak ellenére, hogy a narancslé karotintartalmát befolyásolja a fajta, a termőhely és az évszak is, a különböző karotinfrakciók és azok arányai alig változnak, ami ugyancsak alapja lehet a hamisítás kimutatásának.

A nem illékony szerves savakat manapság HPLC-vel, az illékonyakat pedig GC-vel, esetleg HPLC-MS vagy GC-MS technikával határozzák meg. Megállapították, hogy **a különböző gyümölcslevek karakterisztikus szervessav-koncentrációval és szervessavaránnyal jellemezhetők**. Az almára jellemző az almasav és a citromsav, a fekete szederre és a fekete málnára a citromsav és az almasav, a cseresznyére az almasav és a citromsav, a fekete bodzára és az eperre a citromsav és az almasav, a különféle szőlőfajtákra pedig a borkósav, az almasav és a citromsav különböző mennyisége és aránya. Különböző gyümölcslevek összes aminosav-tartalmát, L-almasav és összes fenoltartalmát meghatározva a citromsavtartalomra lehet következtetni, illetve a komponensek alapján, regressziós egyenletek segítségével, a komponensek mennyisége és aránya is meghatározható. A rendkívül szoros összefüggés a citromsav és az összesfenol-tartalom között lehetőséget ad egy gyors módszer alkalmazására a citromlé tisztaságának ellenőrzése során.

Mivel az **izocitromsav a kereskedelmi forgalomban kapható citromsavban nem fordul elő**, a zöldségeknek és a gyümölcsöknek viszont természetes alkotórésze, arányuk 1:50 és 1:300 között változik, ami lehetőséget ad a hamisítás, a hozzáadott citromsav kimutatására. Az izocitromsavat és a citromsavat enzi-

matikus módszerekkel és HPLC-vel lehet meghatározni. A D-izocitromsavról is állítják, hogy jó indikátora a narancslének, azonban az ehhez hasonló állításokat kritikusan kell kezelni, mert mind a mennyiség (citromsav, D-izocitromsav), mind az arány változhat az évszakkal és az érettségi fokkal.

A gyümölcsökben és a gyümölcslevelekben lévő illékony komponenseket, például gyümölcsésztereket, gáz-folyadék kromatográfiával lehet legkönnyebben kimutatni. Az eljárás során a cukrokat és a savakat első lépésként extrakcióval szétválasztják, majd a savakból illékony trimetil-szilil-származékokat képeznek, melyek alkalmasak a gázkromatográfiás meghatározásra. A gyümölcsökben lévő szerves savakat el lehet választani anioncserélő kromatográfiával is, melyet követhet a GC-s származékképzés és meghatározás, de többen használtak anioncserélő és kationcserélő kromatográfiát és fordított fázisú HPLC-t is erre a célra. Mivel a HPLC az összes almasavat méri, vagy királis származékképzést, vagy enzimes módszert kell alkalmazni az L-almasav meghatározására. A királis folyadékkromatográfia is alkalmas erre a célra, ezért kiválóan használható annak kimutatására, hogy keverték-e szintetikus almasavat a gyümölcsléhez. Királis állófázis alkalmazásával, mint amilyen például a királis valin, az almasav enantiomereit GC-vel is szét lehet választani az illó származék képzését követően.

A D-almasav egyébként kiváló jelzőanyag a hamisításra, mert ez az izomer a természetben nem fordul elő. A D-almasavat az előbbi technikákon kívül enzimatikusan is meg lehet határozni, melynek során a D-malát NAD-oxidoreduktáz dekarboxilezi a D-almasavat piroszőlőssavvá, a keletkezett redukált enzim (NADH) pedig spektrofotometriásan mérhető. **Az L-almasav és az összes almasav mennyiségéből hamisításra lehet következtetni.** A fumársav kis mennyiségben mindig előfordul a mesterségesen előállított almasavban, ezért jelenléte ugyancsak hamisításra utal.

A gyümölcsök, különösen a sötét színű gyümölcsök antociántartalmát, azok mennyiségét és arányát jó hatásfokkal lehet használni különféle termékek azonosítására. Különösen jól lehet hasznosítani például a delfinidint és a malvidint az áfonyához kevert piros szőlőhéjextraktum kimutatására. Az aminosavak és az összes fenoltartalmú vegyület közötti arány (AA/TP), az L-almasav és az összes fenoltartalmú vegyület közötti arány (MA/TP) független a hígítástól vagy az összes hozzáadott citromsav mennyiségétől, de ez igaz a citromsav és az összes fenoltartalmú vegyület közötti arányra is, amely a hozzáadott citromsav indikátora lehet.

A cukornádmelaszt gyakran alkalmazzák a tamarindkoncentrátumok hamisítására. Mivel a melasz jelentős mennyiségben több hamut, foszfort és kalciumot tartalmaz, mint a koncentrátum, ezen komponensek alapján 15–20% melasz koncentrátumhoz történő keverése kimutatható. Az almalé hamisításának vizsgálata során rájöttek arra, hogy az ugyanazon helyről származó hamisított almalé sokkal több cukormentes extraktumot, több szőlőcukrot és kevesebb hamut, benne kevesebb káliumot és foszfort, viszont sokkal több kloridot tartalmaz. A magas glükóztartalom a magas cukormentes extraktummal egyetemben a részlegesen hidroliz-

zált glükózzsyruppal való hamisításra utal. Maltózt a hamisított mintából jelentős mennyiségben, míg az eredeti mintából egyáltalán nem lehetett kimutatni.

Az olyan indexek, mint a szárazanyag/hamu, a savasság/hamu és az egyes cukrok (glükóz, fruktóz, szukróz) aránya, különösen a glükózhoz viszonyított aránya jó indikátor a vízzel való hígításnak és a hozzáadott cukor minőségének és mennyiségének. HPLC-vel, amperometrikus detektálással egyszázaléknyi magas fruktóztartalmú kukoricaszirup és 5% invertcukor a narancsléből kimutatható. Ugyancsak jól használható az izotóparány-meghatározás a hamisítás leleplezésére, mellyel egy külön fejezet foglalkozik.

Az őszibarackból készült gyümölcs-húshoz adott savakat az összes savasság/kálium, az összes savasság/izocitromsav/almasav, az almasav/kálium és az almasav/összes hamu arányok alapján lehet kimutatni. A hozzáadott citromsavat a citromsav/izocitromsav és a citromsav/összes hamu, a cukrokat pedig az összes cukor/összes hamu, az összes cukor/foszfor és az összes cukor/magnézium arány alapján lehet vizsgálni.

5.4.2. Héjhomogenizátum kimutatása citrom- és narancsfélék levéből

Ha héjextraktumot narancslé-koncentrátumhoz kevernek, akkor azt a szabadaminosav-tartalom alapján lehet kimutatni. A valin, a metionin, az izoleucin, a leucin, a tirozin és a fenilalanin koncentrációja 1,5 és 3,7% között változik a gyümölcs-húshoz, míg a héjextraktumban eléri a 7,3%-ot, tehát a magas szabadaminosav-koncentráció arra utal, hogy héjextraktumot kevertek a gyümölcs-húshoz. Ugyancsak jól használhatók a héjextraktum kimutatására a permetoxilált flavonoidok, amelyek csak a citrusfélékben fordulnak elő, és amelyek koncentrációja ötvenszer nagyobb a narancshéjextraktumban, mint a gyümölcs-húshoz. Ennek értelmében 10% héjextraktum gyümölcsléhez keverése szignifikáns mértékben megnöveli a permetoxilált flavonoidok mennyiségét, melyet érzékszervi vizsgálattal még nem lehet kimutatni.

5.4.3. A gyümölcslevek vízzel való hígítása

Nagyon sokfajta analitikai módszert kidolgoztak a gyümölcs- és zöldséglevek vízzel történő hígításának kimutatására. Korábbiakban a sűrűségmérést alkalmazták a hozzáadott víz kimutatására, melynek alapja, hogy a víz sűrűsége kisebb, mint a gyümölcs- vagy zöldségléé, aztán a feketebodzalé vizsgálatára alkalmazták a cukor- és a nitrogénmentes extraktum meghatározását, és az elektromos vezetőképességet is használták, bár ezt a különböző adalékok befolyásolják, és értéke a tárolás során is változhat.

A szervetlen komponensek analízise során kezdetben **az összes hamu mennyiségét mérték**, amely az összes szervetlen anyagot tartalmazza, majd használták a hamualkalitást is, kálium-karbonátban kifejezve, és alkalmazták a káli-

um- és foszfortartalmat is. A hamu- és a foszfortartalom gyakorlatilag független a helytől és a talajtól, és korrekt mutatója a bogyós és gyümölcslevek vízzel történő hígításának. A **narancslé megnövekedett nitráttartalmát** nem a héjextraktum, hanem **az extraktum előállítására felhasznált víz nitráttartalma okozza**. A hamisítatlan minták nitráttartalmát egyébként a minták eredete is befolyásolja, ezért a nitráttartalom alapján nem lehet dönteni a hamisítás tényéről, hisz hamisítani, hígítani nitrátmentesített vagy ionmentesített vízzel is lehet.

A narancsléhoz hozzáadott héj némileg megnövelheti a héj szulfittartalmát. Lényegesen megnövekedett szulfittartalom általában a magas szulfittartalmú vízzel való hígításra utal. **Az összes nitrogén (TN), az amino-nitrogén (AN) és a kettő aránya is jó indikátora a hamisításnak**. A TN/AN arány jól használható a kereskedelmi citromlé hamisításának kimutatására, és ez az arány, kiegészítve olyan ásványi elemekkel, mint a kalcium, magnézium és a foszfor, a legjobb paraméterek a citromlé narancslével való hamisításának kimutatására. Az albuminszerű amino-nitrogén elemzése is hasznos információval szolgálhat, mivel ennek mennyisége független a gyümölcsle pasztörözésétől. **A nikotinsav és a betain, valamint a szabad aminosavak is jó indikátorai a narancslé hígításának**. A kézzel készített narancslé 30%-kal több betaint és kétszer annyi nikotinsavat tartalmaz, mint a kereskedelmi forgalomban kapható. Indikátor lehet még az aszkorbinsav, az ásványi anyagok többsége, az ásványianyag-arányok, mert a koncentrációkból számolt regressziós egyenletekkel jó közelítéssel lehet a hamisítás tényét becsülni.

A szerves komponensek közül az aminosavakat és a vitaminokat lehet felhasználni a hamisítás mértékének meghatározására. A szabad aminosavak meghatározása jelenleg a legelfogadottabb módszer a citrusfélék hamisításának kimutatására. A betakarítás idejét és a klimatikus viszonyokat tanulmányozva megállapították, hogy néhány aminosav koncentrációját a betakarítás ideje befolyásolja, többségükre azonban az nincs hatással. Ez a felismerés tette lehetővé a szabad aminosavak bevonását a minősítésbe, melynek következtében különféle módszereket dolgoztak ki a narancslé hamisításának kimutatására. **A hamisított gyümölcslevek csak negyedannyi szabad aminosavat tartalmaztak**, mint az eredetiek. Az aminosavak alkalmasak voltak a raktározás idejének becslésére is, hisz a prolin, a glicin és a hidroxiprolin mennyisége nem változott a tárolás során, míg a lizin, a hisztidin és az arginin felére csökkent a kétéves, 15 fokon történő tárolás során. **Az aminosavak mennyiségi meghatározásával a fehérje-hidrolizátummal történő hamisítást is ki lehetett mutatni**.

A fehérjeépítő aminosavak mellett a kereskedelmi forgalomban kapható grapefruitlevek a **nem fehérjeépítő ornitint is tartalmazzák**, melynek mennyisége szoros összefüggésben van a többi szabad aminosav koncentrációjával. Amennyiben mennyisége alatta marad egy minimális értéknek, gyanakodni lehet a hamisításra, és segítségével egy gyors tesztet lehet kidolgozni annak ellenőrzésére. A minőségi és a mennyiségi aminosav-analízis kimutatta, hogy az ornitin mennyisége független a grapefruitlé eredetétől, ezért is lehet a hamisítás

bizonyítására használni. A grapefruitlében talált aminosavak közül a β -alanin, a γ -amino-vajsav, a hisztidin, a metionin-szulfoxid és az izoleucin az, ami a hamisítás szempontjából a legnagyobb figyelmet kapta. A γ -amino-vajsav és az arginin különösen jól használhatók a hamisítás kimutatására, mert a γ -amino-vajsav/arginin arány, az arginin/aszparagin arány és a γ -amino-vajsav/aszparagin arány sokkal pontosabb eredményeket ad a hamisítással kapcsolatban, mintha az egyes aminosavakat külön-külön használnánk a hígító vízzel, az egyéb gyümölcslevekkel vagy a fehérjehidrolizátummal való hamisítás kimutatására. Mivel **a mai analitikai módszerekkel a D- és az L-aminosavakat is szét lehet választani** és meg lehet határozni, a királis GC vagy királis HPLC, esetleg királis származékok képzését követően a nem királis GC vagy nem királis HPLC is alkalmas lehet a D-aminosavak kimutatására, és ezen keresztül a hamisítás tényének bizonyítására. A módszer alapja az a tény, hogy a D-aminosavak normál körülmények között a gyümölcslevekben nem fordulnak elő, míg a szintetikus aminosavak racém keverékeinek 50%-át a D-aminosavak alkotják.

Az aminosavak vizsgálatát különösen javasolják a citromlé hamisításának kimutatására. A citrusfélék hamisításának maszkírozására előszeretettel alkalmaznak cukrokat, citromsavat, kálium-foszfátot, aszkorbinsavat és olyan aminosavakat, mint **a glicin**. Ez az aminosav **az alaninnal karöltve jól használható a hamisítás kimutatására**, mert a glicin/alanin arány változik attól függően, hogy természetes, kiváló minőségű narancsléről van-e szó, vagy a levét a második vagy a harmadik préselésből nyerték. Amennyiben fehérje-hidrolizátumot adnak a narancsléhez a hígítás maszkírozására, akkor azt ki lehet mutatni a leucin/izoleucin arány és a γ -amino-vajsav koncentrációja alapján. A fenti aminosavakon túl a glutaminsav és az aszparaginsav is hasznos információval szolgálhat a hamisítás kimutatásakor annak ellenére, hogy a különböző régiókból eltérő időben betakarított citrom aminosav-összetétele eltérő lehet.

A citrusféléktől eltekintve az alma, a körte, a szőlő, az eper, az áfonya, a cseresznye, a szilva, a banán, az ananász és még több gyümölcs aminosav-összetételét fel tudták használni egyrészt a belőlük készült lé megkülönböztetésére, másrészt a hamisítás és az érettségi állapot becslésére.

5.4.4. Vitaminok

A vitaminok mellett, hogy rendkívül fontos mikrotápanyagok, mennyiségüket fel lehet használni a gyümölcsle gyümölcstartalmának becslésére. A karotinoidok a legjobban használhatók erre a célra, de csak akkor, ha meghatározásuk szigorú előírások betartása mellett történik. Az aszkorbinsavat a mandarin gyümölcslé hamisításának kimutatására használták annak ellenére, hogy az aszkorbinsav természetes alkotórésze a gyümölcsnek. A mai modern analitikai módszerekkel **különbséget lehet tenni az eredeti és a hozzáadott aszkorbinsav-tartalom között**, melynek az az alapja, hogy a hamisítatlan gyümölcslében lévő aszkorbin-

sav több ^{13}C izotópot tartalmaz, mint a mesterségesen előállított. Fentieken túl a nikotinsavat és az inozitot is alkalmazták a hamisítás kimutatására, illetve a gyümölcsle gyümölcstartalmának becslésére.

5.4.5. Stabil izotópok analízise

A folyadékkromatográfia, az UV és látható spektrofotometria, valamint a kálium és a nátrium spektroszkópiás meghatározása mellett a stabil izotópokat is előszeretettel alkalmazzák a narancslé eredetének igazolására. Ezen vizsgálatokhoz a ^{13}C és a ^{18}O stabil izotópokat használják. **A ^{13}C vizsgálata a szén-dioxid eltérő módon történő fixálással kapcsolatos** (ld. a vonatkozó fejezetben), **a ^{18}O vizsgálat alapja pedig az a tény, hogy a növény anyagcseréje során folyton párologtat, melynek során arányaiban több ^{16}O izotóp távozik a növényből, és a nehezebb izotópot tartalmazó víz viszonylag feldúsul.** Igaz ez a hidrogénizotópokra is, hisz a nehézvíz aránya is nagyobb a növényekben, mint a növény környezetében, és ez különösen igaz a citrusfélékre. Az $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ arány a szőlő esetében 24 óra alatt nem mutat változást és nincs összefüggésben az érettségi fokkal sem, ezért különösen alkalmas a vizezettség kimutatására. Ezen meghatározások alapvető folyamata a víz kidesztillálása a mintából, alacsony hőmérsékleten, vákuumban, majd ezt követi az izotópok arányának meghatározása célszerűen megválasztott tömegspektrométerrel.

Az izotópok analízise alapján **különbséget lehet tenni a cukornádból a és a cukorrépából származó szukróz, illetve a belőle előállított monoszacharidok között**, ugyanis a cukornádból származó szukróz ^{13}C izotóptartalma szignifikánsan nagyobb, mint a cukorrépából származóé. Nem találtak különbséget a széni-izotópokat vizsgálva az almafajták között, a narancs esetében viszont az eredeti cukrok ^2H -tartalma nagyobb, mint az invert cukoré.

5.4.6. Gyümölcslevek egymáshoz keverésének kimutatása

A különféle eredetű gyümölcsleveket több okból keverik egymáshoz. Az elsődleges ok a hasznoszerzés, amikor az olcsó levet keverik például a drága narancsléhez, de előfordul az is, hogy szőlőlevet kevernek az almaléhez, mert az almalé szállítása egyes országokban korlátlanul megengedett, míg a szőlőlevet vámok sújtják.

A különféle gyümölcslevek cukor- és szorbitoltartalmát vizsgálva megállapították, hogy szinte minden gyümölcsle karakterisztikus cukortartalommal és cukoreloszlással rendelkezik, és néhány gyümölcsle természetes alkotója a szukróz és szorbitol egyaránt. Legnagyobb szorbitoltartalmat a körte, a cseresznye, a szilva, az alma és a barack estében mértek, míg a szőlőben, az áfonyában, a málnában és az eperben rendkívül alacsony volt a koncentrációja. A körte és az alma több fruktózt tartalmazott, mint glükózt, az őszibarack pedig több glükózt, mint fruktózt, a többi gyümölcsben pedig e két cukor koncentrációja gyakorlatilag azonos volt. Hasznosnak bizonyult olyan indexek szerkesztése, mint például a szorbitol/

szukróz vagy a szorbitol/összescukor arány, melyek segítségével különböző szőlőfajtákat tudtak megkülönböztetni, és a körtefajták is különböztek e tekintetben.

Az almaléhoz adott adalékokat, mint például a fehérszőlő- és ananászlevet, édesítőszereket, invertcukrot, nádcukrot és magas fruktóztartalmú szirupot a cukorprofil, a nem illó savak mennyisége, az UV spektrum és az ásványianyag-összetétel alapján mutatták ki. **Az elkülönítéshez alakfelismeréses matematikai statisztikai módszereket használtak**, melyhez az adatokat a HPLC-s és szénizotópos elemzési módszerekből nyerték.

Az utóbbi időben rutinszerűvé vált a gyümölcslevekben lévő fenolos komponensek, különösen a **flavonoidok meghatározása**. Így a floretin- és az izohamnetinszármazékok segítségével sikerült az alma- és a körtelevek között, a naringin és a neohesperidin segítségével pedig a narancs- és grapefruitlé között különbséget tenni. A metoxilált flavonokat és flavonoglikozidokat sikeresen használták a grapefruitlé narancsléből történő kimutatására. A kivi gyümölcs jelenlétét ki lehet mutatni az olyan flavonoidok alapján, mint a quercitin-3-O-ramnóz, a luteolin-6-C-glükozid vagy a quercitin-3-O-rutinozid.

A kis molekulatömegű fenolos komponenseket, a cinnaminsav és a borkósavval alkotott észterei és glikozidjai kivételével, a gyümölcsökben még alig tanulmányozták. Úgy gondolják, hogy cinnaminsav az extrakció és a préselés során szabadul fel a sejtekből. A cinnaminsavon kívül még az alábbi kis molekulatömegű fenolos vegyületeket fedezték fel a különböző gyümölcsökben: szőlő: galluszsav, protokatekhursav, p-hidroxi-benzoészav, vanillinsav és sziringin; fekete ribizli: szalicilsav, vanillinsav, 2,5,-dihidroxi-benzoészav és shikiminsav; alma: protokatekhursav és p-hidroxi-benzoészav; fekete áfonya: p-hidroxi-benzoészav, m-hidroxi-benzoészav, galluszsav, protokatekhursav, vanillinsav és sziringinsav. A gyümölcslevek jellemzésére, azonosítására, egymástól való megkülönböztetésére, esetleg a hamisítás kimutatására előszeretettel használnak olyan komponenseket, mint a 3-flavonolok, a flavonolok, a kalkonok, a benzoészav és a benzaldehid, és a cinnaminsav és észter származékai.

A hidroxycinnaminsav borkósavval alkotott észtere tipikus vegyület a szőlőlében, a floridizin jellemző az almára, az izohamnetin glikozid pedig a körtére. A miricetin csak az őszibarackban volt megtalálható, a luteonin és az apigenin glikozidjai pedig egyértelműen jellemzőek a narancslére. A sárgabarackot két kumarinszármazék alapján, az ananászt pedig a szinapinsav jelenléte, valamint az összes többi flavonoid hiánya alapján lehet beazonosítani. A szőlőlevet a kafeoborkósav, a p-kumaroil-borkósav és a feruol-borkósav-tartalom alapján lehet azonosítani, míg a hidroxi-cinnaminsav-észtera quininsavval más egyéb gyümölcsök jelenlétére utal. A kivi gyümölcsöt a kampferol és a quercetinglikozidok alapján lehet azonosítani.

A narancslé grapefruitléhez történő keverését a naringin és a heszperidin-flavonglikozidok HPLC-vel történő meghatározását követően lehet kimutatni, de alkalmas lehet erre bármilyen izokratikus vagy gradiens elúcióval dolgozó

módszer is, az eredeti vagy származékképzés után kapott vegyület analízisével. A narancsléhez enzimatikusan kesertelenített grapefruitlé-hozzáadás az olyan hidrolízistermékek alapján mutatható ki, mint a naringenin és a prunin. Ha legalább öt százalékban kevernek fügéből származó levét a szőlőléhez, a borhoz vagy a pezsgőhöz, akkor azt a szkaftozid (apigenin-6-C- β -D-glükopiranozil-8-C- β - β -arabinopiranozid) és az izoszkaftozid (két izomer, ahol a cukrok ellentétes helyzetben találhatók) tartalom alapján lehet kimutatni.

A gyümölcsök nem illékony szervessavtartalma nagyon eltérő lehet és jelentős mértékben változhat az érés során, ennek ellenére a borkősavat a szőlő, a laktoizocitromsavat a fekete szeder, a benzoesavat pedig az áfonya esetében használják markerként.

Az alma és az áfonya aminosav-tartalma viszonylag alacsony, a szőlő, a fekete szeder, a szilva és a körte esetében viszont magas, de alkalmazhatóságukat a gyümölcslevek azonosítására jelentős mértékben befolyásolja a technológia, főként a hőkezelés során jelentkező Maillard-reakció. **A prolin különösen jól használható a gyümölcslevek elegyítésének kimutatására**, mert mennyisége az almalében (5,2 mg/liter) és a fekete ribizliben (18,4) rendkívül alacsony, a szőlőlében (345) és néhány cseresznyefajtában (425–1100 mg/liter) viszont rendkívül magas, így csak a prolintartalom alapján az egyes gyümölcslevek beazonosíthatók, összekeverésük kimutatható. Különösen igaz ez a **feketeribizli-lére**, melyet **előszeretettel hamisítanak magas prolintartalmú gyümölcslevekkel**.

Amennyiben citromlevet 5%-nál nagyobb mennyiségben kevernek narancsléhez, az az alumínium-oxid oszlopon végzett kromatográfiás eljárással könnyen kimutatható, mert **UV fényben eltérő sávok jelennek meg a citromlé hatására**, és a módszert sem a pasztörözés, sem a kén-dioxiddal történő kezelés nem befolyásolja. Ha csak 1–2%-ban is adnak narancslevet a golgotavirág gyümölcséből készült léhez, akkor az a limonén- és heszperidin-tartalom, valamint a szabad aminosav mintázat alapján kimutatható. Az olyan egymáshoz közel álló citrusfélék, mint a citrom és narancs egymáshoz kevert levét nehéz csak **a szabad aminosav-összetétel alapján** kimutatni, **a szőlő-, az alma- és az ananászlevek** viszont ezen az alapon egymástól **könnyen megkülönböztethetőek**.

Az aminosav-összetétel meghatározása gyorsabb, mint egyéb hagyományos módszerek, ezért előszeretettel analizálják a szabad aminosavakat. Az analízisek eredményeiből látható, hogy **a szőlő nagy mennyiségű szabad arginint és prolint tartalmaz**, míg ezen aminosavak koncentrációja az almában és az ananászban alacsony. Ezzel ellentétben **az aszparagin nagy koncentrációban van az almában és az ananászban**, és csak kis mennyiségben fordul elő a szőlőben. A metionintartalom alkalmas az alma- és az ananászlé megkülönböztetésére, **a prolin és az aszparagin aránya pedig alkalmas lehet különböző fajták, ezen túl különböző szőlő genetikai variánsok azonosítására is**.

Más gyümölcslé-összetevőhöz hasonlóan a pigmenteket is felhasználják a gyümölcslevek azonosítására. A szőlőlevek előállításakor sokszor **olcsóbb**

szőlő levével hamisítják a drágábbat. Az azonosításra használt polifenolfrakcióba beletartoznak a malvidin, a peonidin, a petunidin, a cianidin és a delphinidin, melyek az antocianinok savas hidrolízisével keletkeznek. Ezen öt komponens segítségével a különböző szőlőfajták leve egymástól szétválasztható. Ezt a módszert több olyan sötét színű gyümölcs esetében is alkalmazták, mint a cseresznye, a málna, a fekete ribizli és az eper. Alkalmazásuk mégis korlátozott, mert az antocianin pigmentek jelentős mértékben változhatnak a technológiai műveletek és a tárolás során.

A paradicsomban három jellegzetes pigment található: a vöröses színű likopén, a sárga színű β -karotin és a vörös színű xantofill. A vörös színű tök tartalmaz egy olyan pigmentet, amelyet a xantofill észterezett származékának tekintenek, és amely nem fordul elő a paradicsomban.

A mezőgazdasági termékek fehérjetartalma genetikailag meghatározott, melyet alig befolyásol a termesztés módja. Ennek ellenére a különböző fajták azonosítására használják, és segítségével az olyan gyümölcslevelek között is különbséget lehet tenni, mint a narancs és a citrom. A szőlő és a szőlőből készült must fehérjetartalmát PAGE-vel, SDS gélelektorforézissel, izoelektromos fókuszálással és HPLC-vel határozták meg. Keményítőgél-elektroforézissel az aszparaginsav aminoszterázt, a foszfoglükóz izomerázt és a foszfoglükóz mutázt meghatározva a különböző kivíjajták között tudtak különbséget tenni, az észteráz és a peroxidáz pedig alkalmasnak bizonyult a különböző burgonyafajták szétválasztására és a keverékek beazonosítására.

A **citrusfélék lipidtartalmát** elemezve megállapították, hogy az **alkalmas, különösen a 12–26 szénatomszámú zsírsavtartományban, az azonosításra.** A citrusféléket elemezve megállapították, hogy azok különböző zsírsavösszetételű szteroidokkal, trigliceridekkel és monogalaktozil-digliceridekkel rendelkeznek, melyek alkalmasak az azonosításra. Az egyik narancsfajta például sok linolsavat, a másik pedig sok linolénsavat tartalmaz a trigliceridekben. A hosszú szénláncú szénhidrogének ugyancsak alkalmasnak bizonyultak az azonosításra. A 23 szénatomszámú szénhidrogének jobbára csak a narancsban, a 25-ös pedig a grapefruitban fordul elő.

A karotinoidok analízisével különbséget lehetett tenni a narancs, a tangerin és a mandarin gyümölcslevelek között. Amennyiben az összes karotinoidtartalmú vegyület kevesebb mint 10%-a β -karotin, akkor nagy valószínűséggel narancsléről van szó.

A gyümölcslevelek **aromakomponensei is alkalmasak az azonosításra.** Ezek közül a 2-okténsav-etilészter, a decénsav és a 2,4-dekadiénsav az almában előforduló legfontosabb aromaanyagok, melyek koncentrációja az érés során folyamatosan nő, az érés végén akár négyszeresére 24 óra alatt.

Először a banánban mutatták ki az 5-hidroxi-triptamint (szerotonin), a 3,4-dihidroxi-feniletílamint (dopamin) és anorepinefrint, melyet követően a biogén aminokat sok gyümölcsben azonosították. Úgy tűnik, hogy a **gyümölcsök**

és zöltségek speciális biogénamin-összetétellel rendelkeznek, melyek lehetővé teszik azonosításukat. A kék szilva és a vörös szilva például a szerotonintartalom alapján választható szét, mely vegyület csak a vörös szilvában található. A narancslé szőlőléhez keverése a tiramintartalom alapján mutatható ki, mely csak a narancslében található 10 mg/kg koncentrációban, és mely a szőlőlében egyáltalán nem fordul elő. A tiramin koncentrációja változik az érés során.

5.4.7. A gyümölcsök és zöltségek érettségi és romlottsági fokára utaló paraméterek

A szavatosságnak és az érettségnek az ellenőrzése rendkívül fontos, mert mindkettő jelentősen befolyásolja a gyümölcs és a belőle készített termékek minőségét. A felhasználhatóság meghatározható különböző műszeres technikákkal és sok kémiai index segítségével is. Számos olyan módszert is kifejlesztettek, amelyek nem járnak a gyümölcs roncsolásával. Ilyenek például azok, amelyek a rezonanciát, az oszcillációt, az elektromos vagy a hanghullámok át- és behatolását, visszaverődését használják ki a lejáratí idő meghatározására. A késleltetett fényemisszió mérése esetén a gyümölcsöt fénnel világítják meg, majd klorofill és hozzá hasonló anyagok fényelnyeléséből tudnak következtetni az érettségi fokra. A nem destruktív módszerek közé tartozik a röntgen komputer tomográfia, melynek segítségével az érett és az éretlen gyümölcsöket szét lehet válogatni. Ezek közé tartozik még az ultrahanggal történő besugárzás és az akusztikus impulzusokra adott válasz alapján történő minősítés.

A kémiai módszerek közül talán legfontosabb **a szabad aminosavak alapján történő minősítés**. Meghatározva a narancs, a tangerin és a grapefruit szabad aminosavainak összetételét megállapították, hogy azok koncentrációja a 150–300 mg/100 g gyümölcslé-koncentráció tartományba esik. **A prolin, az arginin, a γ -aminovajsav és szerin tette ki az összes szabad aminosav 91–93%-át.** Az érés során a prolin és az arginin koncentrációja nőtt, az aszparaginsav mennyisége pedig csökkent, így ezen aminosavak koncentrációját az érettségi fok megállapítására lehet használni.

Az eper esetében az alanin és az etil-észterek (etil-butanol, etil-hexanol) jelentős mennyiségű változáson mentek keresztül az érés során, így mennyiségük az érettségi fok indikátorának tekintendő. A virágzást követő 41–46. nap között az etil-észterek mennyisége háromszorosára nőtt, míg az alanin mennyisége 16,7 mg/100 g-ról 1,6 mg/100 g-ra csökkent. Néhány gyümölcs esetében az acetil-metil-karbinol mennyisége folyamatosan nőtt az érlelés során, a 2,3-butilén-glikol mennyisége pedig a túlérés határán érte el maximumát, melyet követően csökkent. Az alma esetében akkor tekinthető érése optimálisnak, ha a 2,3-butilén-glikol koncentrációja 5 mg/100 mg körüli. Ha ennél több, akkor túlérettségről beszélhetünk, ha koncentrációja meghaladja a 10 mg/100 g-ot, akkor már határozott romlás indult meg a gyümölcsben.

A szőlő esetében a poliszacharidok koncentrációja, a fenolok, a nitrogéntartalmú komponensek, különösen a prolin és az ammónia mennyisége, a különböző aromakomponensek, különösen a terpének és a linalool/geraniol arány, az ásványi anyagok, különösen a kálium/malonsav arány és a különböző enzimek mind alkalmasak az érettség mérésére. A szőlő lipidjei, különösen a palmito-oleo-linolén és a triolein jelzik az érettségi fokot, mely segítségükkel becsülhető. A banán érése során az uronsav mennyisége a sejtfalban és a gyümölcshúsban csökken, ezzel szemben nő a kis molekulatömegű uronsavfrakció a gyümölcshúsból alkohollal kapott extraktumban. A kis molekulatömegű uronsav mennyisége folyamatosan változik az érés során, ezért az érettség becslésére használják.

5.5. Étkezési olajok és zsírok

A világon legnagyobb mennyiségben **a földimogyoró-, a szójabab-, a napraforgó-, a repce-, a mustár-, a szezám- és a szekliceolajat, a különböző csíramagolajakat és olyan évelő növényi olajakat, mint a pálma-, a kókusz- és az olívaolaj használnak legnagyobb mennyiségben emberi fogyasztásra.** A gyapotmagolajat is gyakran használják emberi fogyasztásra, de nagy jelentősége van a kukorica-csíra- és a rizskorpaolajnak is a táplálkozásban. Különleges tulajdonsággal bír a kókuszszír és az avokádó gyümölcs zsírja is, melyeket speciális élelmiszerek előállítására használnak. Indiában az utóbbi időben több évelő növény terméséből nyertek ki emberi fogyasztásra alkalmas zsírokat, és nagyon értékes speciális zsírforrások a dinnyemag- és a tökmagolaj is.

Több növényi olajat nem emberi fogyasztásra, hanem festékek és pácok, valamint fakonzerváló szerek előállítására használnak, melyekkel időnként hamisíthatják az emberi fogyasztásra használt zsírokat. **Az állati eredetű zsírok a marha- és disznóhús-előállítás melléktermékeinek tekinthetők,** melyeket széles körben alkalmaznak emberi fogyasztásra. **A tejszír felhasználása** tejszín, vaj, vajolaj vagy ghee formában **az egész világon elterjedt;** az egyik legfinomabb és legnagyobb biológiai értékű állati zsiradék. Akár növényi, akár állati eredetű zsiradékról van szó, azt vagy mechanikai préseléssel, olvasztással, vagy extrakcióval nyerik ki a növényi vagy állati szövetekből, melyet rendszerint szagtalanítás, színtelenítés, finomítás, hidrogénezés, esetleg frakcionálás, illetve téliesítés követ.

Sok trópusi fa gyümölcse gazdag olajokban, melyeket ipari célokra használnak, például gépolaj, glicerín vagy szappan készül belőlük. Fontos tudni azt is, hogy az olajok a világ melyik részéről származnak, mert a geográfiai eredet minőség- és ármelegsabó tulajdonság is lehet. **Az olajok eredetének feltárására a zsírsavösszetételt és a trigliceridek mennyiségét és arányát használták fel** különböző matematikai-statisztikai módszerek alkalmazásával. Csak ezek a matematikai-statisztikai módszerekkel támogatott analitikai eredmények adnak

lehetőséget arra, hogy a különböző termékek származási helye tudományosan is megalapozva beazonosítható legyen.

A különféle zsírok és olajok esetében mérik a füstölési pontot, a gyulladási pontot, a csúszási pontot, az elszappanosítási számot, a jódszámot, az el nem szappanosítható maradék mennyiségét, az olvadáspontot és a sűrűséget, és **mindenekelőtt a zsírsavösszetételt**, mely utóbbit befolyásolja a érettség, a betakarítási idő és a földrajzi eredet. Ez utóbbiak esetében **meghatározzák a telített, az egyseresen telítetlen és a többszörösen telítetlen zsírsavak mennyiségét és arányát**, és ezen eredmények és az eredményekből képzett indexek alapján lehetőség van a zsír vagy olaj minőségének vagy földrajzi eredetének meghatározására.

5.5.1. A tárolás során lejátszódó változások mérésére alkalmas indikátorok

A zsírok és olajok minősége folyamatosan változik a tárolás folyamán. Az étkezési zsírok és olajok **autooxidatív romlása** nagy problémát jelent az élelmiszer-előállítóknak, mert ez avas ízt, csökkent táplálkozásbiológiai értéket okoz, és gyakorlatilag **tönkreteszi az esszenciális zsírsavakat és vitaminokat**. A zsírok és olajok oxidatív stabilitása ezért nagymértékben meghatározza azok minőségét és felhasználhatóságát a tartós élelmiszerekben. Az oxidatív romlás leggyakoribb oka az oldott oxigén reakciója a telítetlen kötést tartalmazó trigliceridekkel, ezért a tárolhatóság legfontosabb mérőszáma az oldott oxigén mennyisége, mely az oxidatív stabilitást is megszabja. Az **oxidatív stabilitás az indukciós szakasz hosszával mérhető**, amikor is a zsír felkészül az autooxidációs folyamatok beindulására.

Az oldott oxigén mennyiségét különböző elektrokémiai szenzorokkal lehet mérni, és a peroxidszám is régóta használt paraméter a zsír romlottságának megítélésében, melyet általában jodometriás módszerekkel mérnek. Az utóbbi időben sok új módszert is kidolgoztak a peroxidáció mérésére, melyet azért nagyon fontos ismerni, mert a peroxidokból enzimatis vagy nem enzimatis oxidációval nagyon sok másodlagos oxidációs termék képződhet. A hidroperoxidok mérésére a jó oxidált formájának spektrofotometriás meghatározását, a tiocianát módszert és a dién-konjugációt alkalmazták. A zsír romlottságának mérésére a peroxidszámon kívül használták még a Kreiss-reakciót, a tiobarbitursav indexet, a telített és a telítetlen zsírsavak arányát és a különböző hullámhosszaknál kapott abszorbanciát. **A tiobarbitursav-teszt esetében a fő reakciópartner a malonaldehid** volt, melynek segítségével a romlott zsiradékot egyértelműen ki lehetett mutatni. A tiobarbitursav-teszt helyett manapság **a malonaldehid és a 2-hidroxipirimidin reakcióját használják fel**. A malonaldehid pontos koncentrációjának meghatározására a HPLC-t alkalmazzák. A tiobarbitursav-teszt a Kreiss-reakcióval együtt az oxidáció másodlagos termékeit méri, így ezek a reakciók nem specifikusak a peroxidáció szempontjából. A konjugált diének abszorpciójának mérése 280 nm-en hasznos lehet a korai oxidáció kimutatására, mert ezek

a vegyületek az oxidáció kezdetén keletkeznek. Az alifás- és az olefinprotonok meghatározása mágneses magrezonanciával is hasznos lehet a korai oxidáció becslésére és az olajok oxidatív stabilitásának meghatározására.

Az avasság meghatározására az utóbbi időben a headspace gázkromatográfiás analízist fejlesztették ki, melynek során a gáztérből vett minták analízisét követően az avasságra pontosan lehet következtetni. A poláros és apoláros komponensek mennyisége és aránya is kiváló indikátora lehet az avasodásnak. **A zsírok és olajok minősége, avassága kémiai módszerekkel, például az epoxidtartalom alapján is becsülhető.** A meghatározás során a zsírokat és olajokat feloldják, pikrinsavoldattal addig forralják, amíg a színreakció ki nem alakul, majd lúgos közegben 490 nm-en mérik az abszorbanciát, melyből az epoxidtartalom számolható. A kemilumineszcencia, mely általános módszer az oxidációra érzékeny szerves anyagok kimutatására, ugyancsak használható a zsírok oxidációjának mérésére. **Szoros összefüggést állapítottak meg a kemilumineszcenciás jel és a tejpor, valamint a tejporból rekonstruált tej szaga között.** Állati zsírok esetében olyan fluoreszkáló komponenseket mutattak ki, melyek az avasodás során malonaldehidből és aminocsoportot tartalmazó vegyületekből alakultak ki.

5.5.2. A hőkezelt olajok kimutatására alkalmas indikátorok

A fogyasztható olajok közül nagyon sokat alkalmaznak élelmiszerek sütésére, melynek során olyan mélyreható változások játszódnak le, mint például a hőindukálta oxidáció, a hidrolízis és a polimerizáció. **Nem minden olaj alkalmas a hőkezelésre,** ezért az olajokat a hőkezelés előtt különböző vizsgálatoknak vetik alá, mint amilyenek a viszkozitás és a habzás mérése, a színmérés, mely a telítetlen kötést tartalmazó karbonilvegyületekkel hozható kapcsolatba, az UV-abszorpció, mely a konjugált diénekkal és triénekkal kapcsolatos, a dielektromos állandó, mely poláros komponensekkel kapcsolatos, és az organoleptikus tulajdonságok, melyek az illó komponensekkel kapcsolatosak. A kémiai tesztek közé tartoznak a savszám, amely a szabad zsírsavakkal kapcsolatos, a jódszám, amely a telítetlen kötések mérését, a peroxidszám és a különböző kolorimetriás reakciók pedig a kezdődő oxidációval kapcsolatosak. Az illó bomlástermékek, amelyek kidesztillálhatók az olajból és a zsírsavak analízise, különösen a **linolsav/palmitinsav arány,** ugyancsak jó indikátorai lehetnek a hőterhelés mértékének a meghatározásakor sütőolajok esetében.

A nagy linolénsav-tartalmú olajok esetében a gyűrűs származékok mérése szolgálhat hasznos információval a hőkezelés mértékéről. **A 2%-ot meghaladó nagy linolénsav-tartalmú olajok hőkezelését** a ciklikus termékek keletkezése miatt **több országban nem is engedélyezték.** A linolénsav-tartalmat manapság kapilláris GC-vel, MS-detektálással mérik. A poláris lipidek is lehetnek indikátorok, ugyanis a 25–27%-nál több poláris lipidet tartalmazó zsírokat nem lehet további hőkezelésnek alávetni. Az előzőeken kívül a sütőzsírok minőségének in-

dikátora lehet még az oligopolimerek, a digliceridek és az oxidált trigliceridek mennyiségének mérése méretkizárásos kromatográfiával. A közeli infravörös spektroszkópiát is alkalmazzák a dimer- és a polimer-trigliceridek együttes mérésére. Az olajok finomítása során sokszor keletkeznek **konjugált triének**, melyek mennyiségét UV spektrofotometriás módszerrel, a 268 nm-en mért extinkcióval meg lehet határozni. Ezen túl, a 315 nm-en mért extinkcióval, a **konjugált tetraének** mennyisége is meghatározható.

5.5.3. Toxikus szennyeződések és összetevők

Az olajos magvak a betakarítás során gyomnövényekkel is szennyeződhetnek, melyek toxikus anyagokat is tartalmazhatnak. Ezek sok ember megbetegedését, mérgezését okozhatják. Ehhez hasonló gondot okozhatnak a növényi olajok tárolási körülményei is, amikor a jó minőségű, biztonságos növényi olajat olyan tartályokban tárolják, amelyekből **toxikus anyagok oldódhatnak be az olajba**. A szójában, a termőhelytől függően, az alábbi toxikus anyagok lehetnek: hid-rokinonok, tropán alkaloidok, gitagenin, klavin, indol alkaloidok, ricinin, ricin, szaponinok, glikoproteinek, pirrolidizin alkaloidok, tropán alkaloidok. Ezek a vegyületek **rosszullétet, izomgyengeséget, hányást és testtömegcsökkenést okoznak**. Olyan olajokat is keverhetnek a szójaolajhoz, melyeket egyébként étkezési olajként nem használnak. Ilyen például a karanja-olaj, az argemone-olaj, a kusum-olaj és a taramira-olaj. A chaulmoogric-olaj például a ciklopentil mérgező zsírsavakat tartalmazza, melyek HPLC-vel meghatározhatók.

A nem megfelelő technológia következtében a növényi eredetű olajok kenőolajokkal is szennyeződhetnek. Beszámoltak többek között a kókuszszír ásványi olajokkal történő szennyeződéséről is, mely gázkromatográfiás analízissel könnyen kimutatható. A zsírsavak kapilláris gázkromatográfiával jó hatékonysággal szétválaszthatók, melynek során az ásványi olajok egy szétválaszthatatlan komplexet képeznek, egy púpot és nem csúcsot produkálnak, mely karakterisztikus erre a szennyeződésre. Más gázkromatográfiás módszerrel az alkánokat lehet a zsírsavaktól elkülöníteni, melyek jelenléte egyértelműen utal az ásványi olajjal való szennyeződésre.

Az ipari célokra szánt **repeolajat gyakran használják emberi fogyasztásra**, amikor az anilinnal kevert olaj légzési nehézségeket és idegrendszeri zavarokat okoz. Gyakran találhatók az ilyen olajokban növényvédőszer-származékok és zsírsavanilidek, amelyek teljes mértékben alkalmatlanná teszik az emberi fogyasztásra. Gyakran az ilyen olajoknak magas az erukasav-tartalma is, és ugyancsak magas a zsírsavanilid-tartalma, sőt néha állati eredetű zsíradékot és más szennyezőanyagokat is kevernek hozzá. Közülük az anilidszármazékok a legveszélyesebbek, ezért a hamisítással kapcsolatos kutatás is ezzel foglalkozott a legtöbbet.

5.5.4. Módszerek a különféle egymáshoz kevert olajok kimutatására

Az étkezési olajok és zsírok hamisítása más növényi vagy állati eredetű zsiradékokkal sajnos **manapság mindennapi gyakorlat**. Természetesen elsősorban a jó minőségű, márkás olajokat és zsírokat hamisítják olcsóbb, máshonnan származó zsírokkal és olajokkal, vagy olyan technológiai megoldásokat alkalmaznak, melyek nem felelnek meg az előírásoknak. Előszeretettel **hamisítják a jó minőségű olívaolajat olcsóbb növényi olajokkal**, melyet akár szénizotópos módszerrel, akár infravörös spektroszkópiával is ki lehet mutatni, mely utóbbi alkalmas az extraszűz olaj minősítésére is.

A növényi olajokat növényi olajokkal viszonylag egyszerű hamisítani, mert ezek korlátlanul és könnyen elegyíthetők egymással. A hamisítás kimutatására legalkalmasabb talán a folyadék-gáz kapilláris kromatográfia, mellyel a zsírsavakat lehet azonosítani, és **a standardtól eltérő zsírsavösszetétel nagy biztonsággal jelzi a hamisítás tényét**, sőt még a hamisítás mértékére is lehet belőle következtetni. Például ha szójaolajat kevernek az olívaolajhoz, akkor az a kaprilsav-, kaprinsav-, laurinsav- és mirisztinsav-tartalom, valamint az egyes zsírsavak relatív mennyisége alapján kimutatható. A 10%-nál nagyobb mennyiségű mályvaolajat pedig **a ciklikus zsírsavak és a szteroidtartalom alapján lehet kimutatni**. 10%-nál nagyobb mennyiségű gyapotmagolaj a ciklopropén zsírsavak alapján mutatható ki az olívaolajból. A ciklopropén zsírsavak kimutatása nehéz, mert hő hatására instabillá válnak, ami gázkromatográfiás kimutatásukat néha nem teszi lehetővé. A földidíóolajhoz kevert mustárolajat az erukasav-tartalom alapján lehet kimutatni kromatográfiás módszerekkel.

Olyan klasszikus vizsgálatokkal, mint például a jódszám-meghatározás, az étkezési repceolajhoz kevert lenmagolajat ki lehet mutatni, a lenmagolaj magas telítetlen zsírsavtartalmának köszönhetően. A **kókuszolajat** kiváló technológiai tulajdonságai miatt a világ **számos országában hamisítják**. A hamisítás könnyen leleplezhető, mert a kókuszolaj, a tejszírhoz hasonlóan, **nagyon sok rövid szénláncú zsírsavat tartalmaz**, amelyek a hamisításra szánt zsírokból csak nyomnyi mennyiségben mutathatók ki, és rendkívül alacsony a kókuszolaj telítetlen zsírsavtartalma is. A különféle növényi olajok összekeverését a zsírsavösszetétel analízise alapján a jelentősen eltérő zsírsavösszetétel miatt viszonylag könnyen ki lehet mutatni, és ugyancsak alkalmas a zsírsavösszetétel-analízis az olívaolajhoz kevert napraforgó- vagy repceolaj kimutatására is.

A gázkromatográfiás analízissel a mandula-, a földidíó-, a rizs- és az olívaolajat és ezek különböző keverékeit is lehet mérni, és általánosságban elmondható, hogy ezen a területen gyakorlatilag **bármilyen hamisítási kérdés eldöntésére lehetőlegjobb a gázkromatográfia**, bár a HPLC-t is alkalmazták az olívaolaj hamisításának kimutatására alacsony linolsavtartalmú olajokkal. A kókuszvajhoz hamisítás céljából hozzákevert pálmamagolajat a benne nagy koncentrációban előforduló laurinsav és mirisztinsav alapján lehet kimutatni, a gyapot-

magolaj mennyiségéről az olívaolajban pedig az olajsav és a linolsav együttes mennyiségéből vagy az olajsav/linolsav arányból lehet következtetni. **A szójaolaj lenmagolajjal történő hamisítása során** csökken a linolsav- és nő a linolénsav-tartalom, ami felhasználható a hamisítás kimutatására. A tökmagolajhoz kevert repceolaj az erukasav-tartalom alapján, a szója- és a lenmagolaj a linolénsav-tartalom alapján, a napraforgóolaj pedig a behénsav- és a lignocerin-sav-tartalom alapján mutatható ki.

Érdekes technikát dolgoztak ki a **zsírok analízisére lipázzal történő kombinálással**, melynek során a lipázzal 2-monoglicerideket állítottak elő, majd ezen monogliceridek zsírsavösszetételét határozták meg gázkromatográfiával. A kettes pozíciójú zsírsav jellemző az egyes zsiradékokra, ezért ezzel az analízissel sikerült a napraforgóolaj minőségét meghatározni, és **az olívaolajhoz kevert szintetikus olajokat analizálni**. Az olajokban természetes formában előforduló izolált kettős kötéseket alkalikus vagy hő hatására konjugált kettős kötéseké lehet átalakítani, mely jelenség az UV abszorpció megváltozása révén nyomon követhető. E jelenséget felhasználták a lenmagolajhoz kevert szója- és egyéb olyan olajok kimutatására, amelyek nem vagy csak alig tartalmaznak linolénsavat. E módszer alkalmas arra is, hogy a marha-, a sertés- és a juhhus hamisítását ki lehessen mutatni növényi olajokkal, mert **a hússok alig vagy nem tartalmaznak három telítetlen kötést tartalmazó zsírsavakat**.

Zsírok és olajok hamisításának kimutatására a zsírsavanalízisen kívül gyakran alkalmazzák a trigliceridek analízisét is. Az alacsony erukasav-tartalmú canolaolaj kimutatása olívaolajból **a rendkívül hasonló zsírsavösszetétel miatt nagyon nehéz**. A canolaolaj kimutatására ezért **a 40-es tömegszámú triglicerideket használják**, amelyek az olívaolajban nem fordulnak elő, de hasznos segítség lehet a 42-es tömegszámú trigliceridek mérése és a 46:44 tömegszámú trigliceridek arányának felhasználása is a hamisítás kimutatására. A többszörösen telítetlen zsírsavak alkotta trigliceridek alapján az olívaolajhoz kevert mogoró- vagy egyéb észterezett olajokat is ki lehet mutatni. A gázkromatográfiás analízisen kívül használják még a különböző olajok egymáshoz történt keverésének kimutatására a HPLC-t és a differenciál refraktometriát, mely utóbbival például a többszörösen telítetlen trigliceridek analizálhatók. A tiszta olívaolaj például nem tartalmaz dilinoleil linoleátot, mely a szójaolajban kb. 10%-ban fordul elő, vagy trilinoleátot, mely a szójaolajban 29,6, a napraforgóolajban pedig 43,6%-ban fordul elő.

Néhány olyan esetet, amikor például az olívaolajat vágóállatok zsírjából készített olajkészítményekkel hamisítják, nehéz vagy lehetetlen kimutatni a rendkívül hasonló zsírsavösszetétel miatt. Ilyen esetben a zsírok el nem szappanosítható frakciója adhat információt a hamisításról vagy a termelőhely beazonosításáról, mert például az olívaolaj el nem szappanosítható frakcióját erősen befolyásolja a termőhely. A sajtolt olívaolaj el nem szappanosítható részének hidroxilszáma sokkal alacsonyabb, mint az extrahált olajé és a legtöbb egyéb

magolajé. A szója-, a napraforgó-, a gyapotmagolaj, a kókuszszír, az olívaolaj és az avokádóolaj el nem szappanosítható lipidfrakcióit vizsgálva jelentős különbségeket állapítottak meg az összes el nem szappanosítható lipidtartalomban és a szkvalén, a tokoferolok és a szterolok, valamint a tokoferolfrakciók mennyiségében. A szterolok, a tokoferolok és a zsírsavak kombinációjával valójában mindenfajta elegyítést, hamisítást az olajok között ki tudtak mutatni. A módszerrel meg tudták állapítani a napraforgóolaj, a földimogyoró-olaj, a gyapotmagolaj, a kukoricaolaj, az olívaolaj és a pálmaolaj **egymáshoz kevert mennyiségeit a zsírsav metilészterek, a 4-metilszterolok, a triterpén alkoholok, a tokoferolok és a szkvalén analízise alapján**. Ezen komponensek mennyisége és egymáshoz viszonyított aránya egészen más volt a felsorolt étkezési olajoknál.

Az el nem szappanosítható frakció szteroltartalma alapján az olívaolajat a szójaolajtól könnyen meg lehetett különböztetni. Az **el nem szappanosítható frakció szterolösszetétele** különösen jellemző a szűz olívaolajra, melynek **alapján eredetiségét ellenőrizni lehet**. Olyan magolajakat adva az olívaolajhoz, mint a szója-, a napraforgó-, a mogyoró- vagy szőlőmagolaj, az megváltoztatja a szterolok arányát, például a β -szitoszterol arányát a szigmaszterol és a kampezsztterol összes mennyiségéhez viszonyítva. A földimogyoró-olaj hamisítását sáfrányolajjal ezzel a módszerrel könnyen ki lehet mutatni.

Némi problémák azonban ezzel a módszerrel is adódhatnak, mert a nyomnyi mennyiségben előforduló komponensek koncentrációja tovább csökkenhet a semlegesítés, a fehérítés és a szagtalanítás következtében. A finomítás során csökken a tokoferol és a szterolok mennyisége, megváltozhat a szterolfrakciók aránya, ami például felhasználható nyers és a finomított olajok megkülönböztetésére. A koleszterin- és a fitoszterinészterek meghatározására legalkalmasabb a gázkromatográfia, de a HPLC-t és annak fordított fázisú változatát is többen használták analízisre. A napraforgóolaj és a paradicsommag-olaj jelentős mennyiségben tartalmaz telített zsírsavak szterinekkal alkotott észtereit, melyek alkalmasak e két olajféleség beazonosítására. A hasonló zsírsavösszetételű kókuszolaj és pálmaolaj is csak a szterolok különbözősége alapján választható el egymástól.

A fenolos komponensek közül a tirozol felhasználható **a szűz olívaolajhoz kevert finomított olaj mennyiségének kimutatására**, ugyanis a tirozol, 4-hidroxifenil-ecetsav és a hidroxitirozol együttesen kb. 50%-át teszik ki a szűz olívaolaj fenolos komponenseinek. A finomítatlan olaj tirozoltartalma legalább 30 mg/kg, míg a finomított olaj gyakorlatilag nem tartalmazza ezt a komponenst. A fenolok meghatározására a fordított fázisú HPLC-t, UV-detektálással és a GC-MS módszereket alkalmazták.

A magasabb szénatomszámú zsírsavalkoholok alapján a sajtolt pogácsából extrahált olaj is kimutatható az olívaolajban. A görög olívaolaj tetracosanol és hexacosanol analízisével ki lehet mutatni a hidrogénezett olajok vagy a gyenge minőségű olívaolaj hozzákeverését a jó minőségű olajhoz. Extrahált olajok hozzákeverése a hidegen préselt olajokhoz a magasabb szénatomszámú alkoholok és

a triterpén-dialkoholok segítségével mutatható ki. Az eritrodiol mérése alkalmas arra, hogy 5% extrahált olaj a hidegen préselt olajban kimutatható legyen.

5.5.5. A növényi olajok, valamint a tengeri származású és állati zsírok elegyítésének kimutatása

A növényi olajokból **a tengeri eredetű olajok** és állati zsiradékok gázkromatográfiás analízissel mutathatók ki, melynek alapja az eltérő zsírsavösszetétel, a megnövekedett mirisztinsav- és palmitinsav-tartalom, a 20 és 22 szénatomos zsírsavak megnövekedett mennyisége, valamint az, hogy az utóbbiak **páratlan szénatomszámú zsírsavakat is tartalmaznak**. Az állati zsiradékok sokkal több tetradekán- és hexadekánsavat tartalmaznak, mint a növényi olajok, így például a marha- és a birkafaggyú, valamint sertézsír 0,6–4,8% tetradekánsavat és 0,1–6,7% hexadekánsavat, míg az olívaolaj kevesebb mint 1% tetradekánsavat tartalmaz, hexadekánsav pedig nem is található benne. **A tengeri eredetű olajok sok többszörösen telítetlen zsírsavat** (eikoza-pentaénsav, dokoza-hexaénsav) **tartalmaznak**, mely ugyancsak lehet a kimutatás alapja, mert ezek a zsírsavak a növényi olajokban nem fordulnak elő.

Az el nem szappanosítható frakció analízise különösen alkalmas a növényi és az állati zsírok megkülönböztetésére, ugyanis **koleszterin a növényi zsírokban és olajokban nem fordul elő**. A koleszterinen kívül alkalmas a különböző zsírok keverékének kimutatására a brasszिकासzterol, a sztigmaszterol, a kampeszterol és a szitoszterol mennyiségének és a koncentrációk arányának mérése. **A koleszterintartalom alapján 10% állati eredetű zsiradék a növényi olajokból kimutatható**, és az előbbi szterolok segítségével a pálmaolajhoz kevert disznózsír és a növényi olajokhoz kevert tengeri eredetű zsír is kimutatható. Az el nem szappanosítható frakció szeroltartalmát vékonyréteg-, de főként gázkromatográfiával lehet meghatározni eredeti állapotunkban is, de többnyire megfelelő származékképzés után.

5.5.6. A zsírok és olajok egyéb szennyező anyagai

Hidrogénezéssel és átészterezéssel a zsírok keménysége növelhető. E folyamatok során transzszírsavak is keletkezhetnek, melyek például infravörös spektroszkópiával könnyedén kimutathatók, de újabban a kapilláris GC nyert teret a cisz és a transz konfigurációjú zsírsavak analízisében. Mivel a transzszírsavak a növényi zsírokban nem vagy csak nyomnyi mennyiségben fordulnak elő, a transzszírsavak analízise információval szolgál a hidrogénezés tényét, illetve intenzitását illetően. Az átészterezés tényére a zsírsavaknak a trigliceridekben elfoglalt helyéből lehet következtetni, melyet lipázos hasítás után gázkromatográfiával határoznak meg. Ha a palmitinsav mennyisége a 2-monoglicerid pozícióban nagyobb mint 2%, nagy valószínűséggel átészterezett zsír van jelen a mintában.

5.5.7. Egyéb speciális komponensek az egyes olajok kimutatására

Nagyon sok növényi olaj tartalmaz olyan komponenseket, amelyek csak az illető olajra jellemzőek, más olajokban nem fordulnak elő, ezek tárgyalása azonban meghaladja a könyv kereteit. Néhány kiragadott példa: A mustárolaj kimutatása más étkezési zsírokból és olajokból azon alapul, hogy a mustárolaj tartalmazza az allil-izotiocianát illékony komponenst, ami az egyéb olajokban nem fordul elő. A rizskorpaolaj orizanolt tartalmaz, mely gyűjtőneve az olyan vegyületeknek, mint a metil-ferulát, a cikloartenil-ferulát, a 24-metilén-cikloartenil-ferulát, mely az egyéb növényi olajokban nem fordul elő. A szűz és a finomított olívaolaj megkülönböztetésére gyakran használják a nátriumtartalom-meghatározást atomabszorpciós spektrofotométerrel, melynek során az összes nátriumtartalmat meghatározva a hamisítás tényére tudnak következtetni, ugyanis a finomított olaj nátriumtartalma lényegesen nagyobb a szűzénél.

5.5.8. Az egymáshoz kevert állati zsiradékok analízise

A legnagyobb problémát ezen a téren a marhafaggyúhoz kevert disznózsír kimutatása jelenti, mely vallási okokból rendkívül fontos analízis. Mivel a sertészsír transz konfigurációjú zsírsavakat nem tartalmaz, a kérődzők bendőjében viszont a bakteriális fermentáció alatt jelentős mennyiségben keletkezik, ami meg is jelenik a marhafaggyúban, a transzzsírsavak kimutatása lehet a megkülönböztetés alapja. Rendkívül eltérő a két zsiradék egyéb zsírsavösszetétele is, ezért ezen zsírsavak, különösen a sztearinsav mennyisége, a palmitinsav : olajsav és a palmitinsav : linolsav arány alkalmas lehet a marhafaggyúhoz kevert disznózsír mennyiségének a meghatározására. A sztearinsav és az olajsav arány alapján a libazsírhoz kevert sertészsír is kimutatható. A meghatározásokat kapilláris gázkromatográfiával, oszlop előtti származékképzéssel, metilészterek formájában végzik, míg a zsírsavak helye megállapításához a trigliceridekben lipázos előemésztést is alkalmaznak.

5.6. Az élelmiszerek minőségében bekövetkezett változások nyomon követése az előállítás során

Mire az élelmiszer eljut a fogyasztóhoz, sok olyan változáson megy keresztül, melynek során összetétele jelentősen megváltozhat. Ilyen változást idézhet elő a technológia, melynek során a nyersanyagból élelmiszer lesz, a szállítás, a tárolás és például a hűtés és a fagyasztás, melyet a felengedés és a fogyasztásra történő előkészítés, a felmelegítés követ. A legfontosabb élelmiszereinknél fontosak lehetnek az alábbi kérdések: A sajt vajon nyers vagy hőkezelt tejből készült-e? A

fagylalkészítéshez használt tej vajon friss volt vagy rekonstituált, tejporból készült víz hozzáadással? Az ételkészítéshez használt hús vagy hal friss volt-e vagy lefagyasztott és kiolvasztott? Milyen technológiai eljárásokat alkalmaztak az előállítás során, érte-e hő vagy sugárkezelés az élelmiszert? Az élelmiszer-alapanyagokat hűtötték vagy fagyasztották? Alkalmaztak-e pasztörözést, forrázást vagy sterilizést a készítés során? Csak ezen kérdések megválaszolása után dönthetünk arról, hogy az élelmiszer jó minőségű alapanyagból készült-e, és hogy az előállítás során alkalmaztak-e olyan módszereket, amelyek jelentős mértékben rontották volna az étel minőségét. Hogy ezekről a kérdésekről dönteni tudjunk, **olyan indikátorokra van szükségünk, amelyek egyértelműen jelzik mind a kedvező, mind a kedvezőtlen változásokat.**

5.6.1. A hőkezelés hatása az élelmiszer összetételére

A hőkezelés a legelterjedtebb technológiai művelet, melyet az iparban és a háztartásokban egyaránt széles körűen alkalmaznak mind az élelmiszer-tartósítás, mind az ételkészítés során. **Az elsődleges cél a mikroorganizmusok elpusztítása és az eltarthatósági idő növelése.** Az alapvető cél a patogén mikrobák teljes pusztítása, illetve legalább számuknak az eredeti érték 10%-a alá csökkentése, amit különböző idő- és hőkombinációkkal érnek el. A tartósítóiparban ezen alapelvek megvalósítása nem ütközik nehézségbe, az összes élelmiszer előállítása során azonban ezek a feltételek nehezen kivitelezhetőek. A hőre érzékeny élelmiszerek esetében, mint amilyenek például a paradicsomlé vagy a narancslé, a sterilizés a hosszabb eltarthatóság érdekében létfontosságú. Magas fehérjetartalmú anyagoknál a hőkezelés és annak mértéke a fehérjék hő hatására bekövetkezett denaturációjával nyomon követhető, de jó indikátor erre a hústermékek kreatin : kreatinin aránya is, mellyel a hőkezelés mértékére lehet következtetni. **Bioindikátorokat is alkalmaznak** például a steriliző belsejében lejátszódó mikrobapusztulás mértékének jelzésére, különböző **hőnek ellenálló mikroorganizmusok segítségével.**

A spórás bacilusok vagy a klosztridiumok kiválóan alkalmasak a nedves környezetben végzett hőkezelés minőségének jellemzésére, de alkalmasak erre a különféle élesztőféleségek és a *Clostridium butyricum* is, melyek közül ez első a 60–65, a második pedig a 95–100 °C közötti hőtartományra szolgáltat adatokat. A módszer hátránya, hogy a hőkezelést túlélő mikroorganizmusok segítségével csak hosszadalmas tenyésztés után értékelhetők az eredmények, ami akár 2–10 nap is lehet.

Az enzimek is kiváló indikátorai a hőkezelés hatékonyságának. A **peroxidáz** egy **hőstabil** enzim, melyet a **60–85 °C közötti pasztörözés ellenőrzésére lehet alkalmazni**, ennek során az enzimaktivitást vagy annak hiányát különböző analitikai módszerekkel kell mérni. Jól használható a hőkezelés minőségének becslésére a **foszfatáz enzim aktivitásának mérése is**, mely különösen alkalmas hőkezelt konzervek minőségi analízisére, mert egyértelmű összefüggés van a foszfatázaktivitás és a hőkezelést túlélő vegetatív csírák mennyisége között. A

módszert jó hatásfokkal alkalmazták **hőkezelt sonkák minőség-ellenőrzésénél**. A foszfatáz enzim aktivitásának meghatározásánál szükséges a nagyon jó átlagminta, a megfelelő szubsztrátkoncentráció és az optimális pH beállítása, mely tényezők jelentősen növelhetik a módszer érzékenységét. A főtt baromfihús hőkezeltségének ellenőrzésére **egy gyors fluorimetriás foszfatáztesztet dolgoztak ki, mely három perc alatt megmondja a hőkezelés végső hőmérsékletét**. A fentiekén túl alkalmazták még a hőkezelés ellenőrzésére az alanin aminoszferázt (ALT) és az aszparaginsav aminoszferázt (AST), valamint ezek egymáshoz viszonyított arányát. Ezen enzimreakciók segítségével olyan kiteket állítottak össze, melyek segítségével a hőkezelés mértéke üzemi körülmények között is optimálisan ellenőrizhető.

A mitokondriális **glutamin oxálecetsav transzamináz (GOT)** és annak szarkoplazmából származó izoenzime a sertésvázizom hőkezeltségének mérésére használható. A GOT aktivitása 0–4 °C közötti hőmérsékleten csak némileg csökken, ezért inkább **a hőkezelés végső hőmérsékletének megállapítására javasolják alkalmazni**. A pulykahús hőkezeltségének mérésére az AST/GOT arány bizonyult a legjobbnak. A **marhahús hőkezeltségének mérésére a laktátdehidrogenáz aktivitásának mérését javasolják**, melynek segítségével a hőkezelés végső hőmérséklete pontosan megállapítható. A szendvics ELISA-módszert ugyancsak alkalmazták a baromfihús legmagasabb hőmérsékletének mérésére a hőkezelés során, és ez a módszer Amerikában különösen elterjedt a pulykahús minőségének meghatározására: annak ellenőrzésére, hogy annak belső hőmérséklete elérte-e az előírt 71,1 °C-ot.

A húsból **kivonható fehérjék mennyisége jelentős mértékben csökken a hőkezelés során**. A 64,5–68,8 °C között hőkezelt sonkákból extrahált piruvátkináz, malátdehidrogenáz, adenilátkináz, izocitrátdehidrogenáz, kreatinkináz, aszparaginsav aminoszferáz, fruktóz-1,6-difoszfát aldoláz, citrátszintetáz és glutaminsav oxálcetát transzamináz aktivitása gyakorlatilag nullának bizonyult. Még több enzim aktivitásának mérése után arra a következtetésre jutottak, hogy a marha-, a sertés- és a baromfihús triózfoszfát izomeráz enzime az, amely alkalmas a 68,8 °C-os végső hőmérsékletű hőkezelés jelzésére. Ugyancsak alkalmas a fehérjét ért hőintenzitás mértékének becslésére **a szarkoplazma-fehérjék denaturációjának foka**, mint amilyenek a laktátdehidrogenáz, a mioglobín, az albumin, az immunoglobulin-G és a transferrin. A laktátdehidrogenáz az 55–60 °C közötti, a szérumalbumin pedig a 65–70 °C közötti hőkezelés mértékének mérésére kiváló indikátor.

A tej és különösen a tejpor felhasználhatósága függ attól, hogy milyen hőkezelésen ment keresztül, ugyanis az jelentős mértékben megszabja a felhasználhatóságát, a főtt vagy UHT-szagát és a tápanyagtartalomban bejövő veszteségeket. A tejfehérje szabad SH-csoportjainak száma szoros összefüggésben van az UHT-szaggal, nincs összefüggésben a környező oxigénnel, ezért mértékéből a hőkezelésre lehet következtetni. A hőkezelés mértékének becslésére kidolgo-

zott módszerek többsége a nem denaturált savófehérjék közvetlen mérésén alapul. Magas hőmérsékletű, rövid idejű hőkezelés során (73 °C, 15 másodperc) az α -laktalbumin 20%-a, a β -laktoglobulin 25%-a, a szarvasmarha szérumalbuminnak pedig 39%-a csapódik ki, míg ezek az értékek UHT-körülmények (135 °C, 6 másodperc) között kezelt tej esetében 46%, 89% és 100%. Mivel **nagyon szoros az összefüggés a savófehérje denaturációja és a hőkezelés foka között**, immunoelektroforézissel ebből a hőkezelés körülményei megállapíthatók. Amikor a tejet 80 °C-ra vagy afölé melegítik, akkor az albumin kicsapódik, és szervesetlen sók jelenlétében precipitátot képez a kazeinnel, melynek mértéke turbidimetriásan mérhető. Amennyiben a tejporban a ki nem csapódott összes szérumnitrogén mennyisége nagyobb mint 6 mg/g, akkor a tejpor optimális, alacsony hőbehatásnak volt kitéve, ha a mennyiség 5,99–1,51 mg/g között van, akkor a hőbehatás közepes volt, ha 1,51 mg/g-nál kisebb, akkor nagy volt a hőbehatás a tejpor előállítása során. Módszert dolgoztak ki a hőhatás mértékének megállapítására a ciszteinszám alapján, és HPLC-vel meghatározták a savófehérje frakciókat is.

A tejben lévő enzimek egy részét a **mikroorganizmusok** termelik, melyek **proteázai főként a κ - és a β -kazeint támadják meg** és bontják le. Ezen enzimek inaktiválásának hatásfoka nemcsak a hőkezelés intenzitásától függ, hanem attól is, hogy milyen típusú baktériumok szaporodtak el a tejben a hőkezelést megelőzően. A proteolízisen átesett kazein mennyiségének meghatározásával a tej eredeti mikrobiológiai minőségét lehet becsülni. A kazeinfrakciókat SDS-PAGE módszerrel lehet elemezni, mellyel a nagy molekulatömegű bomlástermékek határozhatók meg. A κ -kazeinfrakció ellenáll a tej eredeti fehérjebontó enzimeinek, ezért ha para- κ -kazeint lehet az UHT tejből kimutatni, **az a hőstabil, bakteriális eredetű fehérjebontó enzimek jelenlétére utal**, melyek képesek a továbbiakban a κ - és a β -kazeint is hasítani. Ezért ha fennáll a gyanú, hogy az UHT tejet rossz mikrobiológiai minőségű nyers tejből állították elő, akkor az SDS-PAGE-vel igazolható, tehát a κ -kazeinfrakció a nyerstej minősítésére is használható index.

Az élelmiszer-előállítás során alkalmazott intenzív hőkezeléskor a fehérjék aminosavai egy része racemizálódik, és a D-aminosavak mennyiségéből a hőkezelés mértékére lehet következtetni. A pasztörözés során alkalmazott hőkezeléskor is keletkezhetnek D-aminosavak, melyek mennyiségét HPLC-vel, oszlop előtti származékképzéssel, diasztereoizomer származék formájában, akirális oszlopon, vagy származékképzés nélkül, királis oszlopon is meg lehet határozni. Alkalmas lehet még a meghatározásukra a királis gázkromatográfia is, illékony királis származékok képzését követően. A D-aminosavak mellett még egyéb olyan aminosav-származékok is keletkezhetnek, mint a lizino-alanin vagy a hisztidino-alanin, melyek mennyiségéből ugyancsak lehet következtetni a hőkezelés mértékére.

A tej redukáló diszacharidja, a laktóz, a hőkezelés során izomerizációs reakcióban vehet részt, és Maillard-reakció termék is keletkezhet belőle. Az aldóz-ke-tóz izomerizáció során laktulóz, galaktóz és tagatóz keletkezhet, ezért a laktulózt, az epilaktózt és a galaktózt a hőkezelés indikátorának is használják. A tagatóz

galatózból keletkezik a hőkezelés során, melynek mennyisége a hőkezelés intenzitásával párhuzamosan nő. Ezeket a reakciótermékeket HPLC-vel meg lehet határozni. **A galaktóz mennyisége a tejpor tárolása során folyamatosan nő.** A Maillard-reakciótermékek, mint amilyen például a laktozil-lizin, mely hőkezelés során keletkezik a redukáló laktózból a lizin ϵ -mino csoportjával történő reakció során, valamint a belőle keletkező bomlástermékek, a hangyasav, a furozin és a laktulóz : furozin arány, jó jelzői a hőkezelés intenzitásának.

Az UHT tej glikozilált és szénhidrátmentes kazeino-makropeptid-tartalma csak 40%-a a nyerstejének, ezért ez a komponens is jól használható a hőkezelés mértékének megállapítására. Ehhez hasonlóan a laktozán, a 4-O- β -D-galaktopiranozil-1,6-anhidro- β -D-glükopiranoz, mely a laktóz pirrolízise során keletkezik, ugyancsak jó indexe a hőkezelés mértékének.

A tej pasztörözése során előfordulhat, hogy technológiai hibából **a tej nem kapta meg a megfelelő hőkezelést**, vagy esetleg a pasztörözött tejet nyers tej-jel keverték össze. A **foszfátázteszt** segítségével az ilyen tejminták pozitív eredményt adnak, a negatívok pedig nagy biztonsággal felhasználhatók. A teszt segítségével **0,1–0,2% nyerstej a pasztörözött tejből vagy tejszínből kimutatható.** A módosított módszer szerint a p-nitrofenil-foszfátról az aktív enzim lehasítja a p-nitro-fenolt, melynek mérésével a hőkezelés elégtelenségére lehet következtetni. Fenolftalein-monofoszfát alkalmazásával alkalikus közegben a szabaddá vált fenolftalein vörös színe jelzi a pozitív reakciót. A foszfátázteszt alkalmas annak ellenőrzésére is, hogy **a sajtot pasztörözött vagy nyers tejből készítették**, ugyanis a nyers tejből készült sajt néhány embernél emésztési zavarokat okozhat. A nyers tejből készült sajtokat csak bizonyos idő után lehet forgalomba hozni; így pl. a cheddar sajtnál előírás, hogy a készítés után 60 napon belül forgalomba hozott sajtokat csak pasztörözött tejből szabad készíteni. A foszfátázpróba alkalmas a citrusfélék leve pasztörözöttségének megállapítására is, ugyanis az enzimaktivitás rohamosan csökken a hőkezeltség mértékével.

A folyékony tojás a kismértékű fertőzöttség következtében szalmonellabaktériumokat tartalmazhat, melyek elpusztítására 64,4–65,5 °C-os hőkezelést kell alkalmazni úgy, hogy a fehérje kicsapódna vagy elveszítené funkcionális tulajdonságait. **A tojásban jelen lévő α -amiláz hő hatására károsodik**, amit fel lehet használni a hőkezelés mértékének ellenőrzésére. A teszt során a mintát 44 °C-on keményítőtovel inkubálják, és ha megfelelő volt a hőkezelés (64,4 °C legalább 2,5 percig), akkor az amilázteszt negatív, és a tojás a kellő hőkezelést megkapta.

Az élelmiszerek, különösen a zöldségek forrázása több esetben megelőzi azok tartósítását, fagyaszttva történő szárítását, mert a forrázás hatására a legtöbb enzim inaktíválódik, és csökken a mikrobiális romlás lehetősége is. A nem megfelelő forrázás hatására a zöldségek rossz szagúak lesznek, mert **az enzimaktivitás következtében beindulnak a romlási folyamatok.** A megfelelő forrázási technológia esetén a peroxidáz és a kataláz enzimek inaktíválódnak, tehát aktivitásuk megmaradása a nem megfelelő hőkezelésre utal. A lipoxigenáz enzim

a zsírok és zsírsavak oxidációjának beindításával alakít ki rossz ízt és zamatot a babféléknél, ezért megerősítést nyert, hogy **a hőkezelés mértékének becslése során a lipoxigenáz enzim jobb indikátor, mint a peroxidáz.**

Az **előfőzés** egy olyan technológia, melynek során a rizst a végső szárítás előtt forró vízben hőkezelik. Ez a kezelés javítja a termék tulajdonságait, táplálkozási értékét és a hidratációt a főzés során. Az előfőzés minőségéről a fehérjeoldhatósági teszttel, a mag színével és a duzzadás mértékével lehet meggyőződni.

A **pörkölést** sok olyan élelmiszer előállításánál alkalmazzák, mint amilyen például a kávé vagy a kakaó. A hőkezeléskor előforduló Maillard-reakció során sok olyan aroma és zamatanyag keletkezik, amelyek hozzájárulnak a termék organoleptikus tulajdonságaihoz. **A fő aromakomponensek a redukáló cukrok és az aminosavak reakciója során keletkeznek,** ezekhez tartoznak az alkilpirazinok, melyek koncentrációja függ a hőkezelés hőmérsékletétől és idejétől. A hőkezelés során mono-, di-, tri- és tetrametilpirazinok keletkeznek, melyek a kezeletlen kakaóbabban is előfordulnak, és koncentrációjuk csak lassan nő a hőkezelés során. Egyedül a tetrametilpirazin koncentrációja nő erőteljes mértékben, ezért a tetra-2,5-dimetilpirazin mennyisége és a tetra-/trimetilpirazin aránya jó indikátora a megfelelő hőkezelésnek.

A kávé esetében a vízzeloldékony melanoidinek és a szerves oldószerben oldható aromás anyagok mennyiségéből lehet a pörkölés optimális végpontjára következtetni, melyet érzékszervi vizsgálatokkal határoztak meg. A pörkölés során keletkezett illóanyagok mennyiségére az alanin, a leucin, a fenilalanin és a glutaminsav enantiomerei mennyiségéből és arányából lehet következtetni. A pörkölés során keletkezett szerves illó anyagok meghatározása indirekt módszer, mely független a pörkölési hőmérséklettől, a pörkölés technológiájától, a kávé fajtájától és a zöld kávé gőzzel való előkezelésétől.

5.6.2. Kémiai markerek a hőkezelés kimutatására

A hőkezelés tanulmányozásakor nem azokat a markereket vizsgáljuk, amelyek eltűntek, hanem azokat, amelyek keletkeztek vagy átalakultak hőkezelés hatására. Jelenleg három különböző markert használnak a hőkezelés kimutatására, amelyek közül a 2,3-dihidro-3,5-dihidroxil-6-metil-(4H)-piran-4-one (M_1) a brokkoli, a baromfi, a sonka, a zöldségek és gyümölcsök hőkezelése során keletkezik, az 5-hidroximetil-furfural (M_2) a hőkezelt gyümölcsökből és zöldségekből készült levekből, míg az M_3 **a fehérjék, elsősorban a hús hőkezelését követően mutatható ki.** Az M_1 és M_3 **prekurzora a fruktóz,** mely vegyületek anion méretkizárásos kromatográfiával, UV-detektálással reprodukálhatóan, pontosan mérhetők. E két komponenst széles körben alkalmazzák a különféle élelmiszerek hőkezelésének kimutatására, és kiválóan alkalmasak a húskok, a gyümölcsök és a zöldségek mind magas hőmérsékleten, mind hagyományos módon, de akár a mikrohullámmal végzett hőkezelésének tanulmányozására is.

A fehérje minőségét és oldhatóságát tanulmányozva megállapították, hogy a PAGE-val végzett analízis, a hasznosítható bázikus aminosavak elemzése és a barna szín megjelenése mind azt sugallják, hogy nincs jelentős változás a hús táplálkozási értékében **a hőkezelés után, a fehérje csak kismértékben változik meg**, melyet a foszfát pufferben való oldhatósággal és a diszulfid hidak elemzésével is megerősítettek. Némely magas hőmérsékletű és hosszantartó hőkezelés hatására sötétbarna elszíneződés jelentkezhet, és az összes fehérjénél **megjelennek a nem diszulfid kovalens kötések**, és a makromolekulák is némi bomlást mutatnak. A mélyhűtve történő tárolás a hőkezelés előtt megváltoztatja az elektroforetikus mintázatot, tehát **a mélyhűtőben tárolt hús fehérjéje érzékenyebb a hőkezelésre**.

A kereskedelmi forgalomban kapható húsok esetében a szín az, amit először analizálnak a hőkezelés után. A baromfi hús színét a hagyományos módszerekkel, nagy mennyiségű, egységes színhatású minta esetében reflexiós spektrofotometriával vagy **az extrahált pigmentek abszorpciós spektrofotometriájával határozzák meg**. Mindkét módszer elég bonyolult, és a mindennapi rutinellenőrzésekre nehéz őket alkalmazni. A mioglobín abszorpciós spektrumában van egy határozott, éles csúcs 560 nm-en, mely határozott csökkenést mutat akár sütés, akár főzés hatására. A csökkenés határozottan mutatkozik még az 500 nm-es határon túl is.

5.6.3. A friss és a fagyasztott, majd kiengedett élelmiszerek megkülönböztetése

A fagyasztott zöltségek kiengedése után, amennyiben a fagyasztás előtt a forrázás nem volt megfelelő, gyakran érződik az acetaldehid szaga. Más élelmiszerek-nél is nagyon jelentős, hogy **a friss és a fagyasztás után felengedett alapanyagokat meg lehessen egymástól különböztetni**. A hús- és halmintáknál mérik **a szabad aminosav tartalmat**, mely **a fagyasztás és felengedés hatására jelentős mértékben megnő**, valamint a fagyasztás hatására szabaddá vált szarkoplazma-mitokondriális enzimeit, hisz fagyasztáskor és felolvasztáskor az állati szövetek, sejtek és sejtservecskék, mint a mitokondriumok és a lizoszómák, jelentős mértékű bomlást szenvednek, és a felbomlott struktúrák szabadon engedik az enzimeket. E célból vizsgálják az olyan **mitokondriális enzimeket**, mint a citokrómozimoxidáz c, a glutaminsav-aszparaginsav aminotranszferáz, a szukcinát dehidrogenáz, a lizoszomális enzimek közül az arilszulfatáz, a β -glükuronidáz, a savas foszfatáz és proteináz, valamint a α -glükozidáz és az N-acetil-glükózaminidáz, amelyek **mind alkalmasak a friss, valamint a fagyasztott és felengedett élelmiszerek (elsősorban hal és hús) megkülönböztetésére**.

Az enzimek, illetve az enzimek aktivitásának vizsgálata komoly felszereltséget, nagy szaktudást és hosszú előkészítési műveleteket igényel, ezért a gyakorlatban csak kevés terjedt el e módszerek közül. A sertéshús esetében csak az észteráz-lipáz, a β -glükuronidáz és az α -glükozidáz enzim mérése terjedt el a gya-

korlatban, melyek segítségével **a friss és a lefagyasztott és felolvasztott sertéshús teljes bizonyossággal megkülönböztethető**, és amelyekkel a -10 és -60 °C közötti fagyasztási hőmérséklet is becsülhető.

Halaknál az izom enzimjei közül a β -N-acetil glükózaminidázt és a proteináz-aktivitást alkalmazták a friss és a fagyasztott-felengedett alapanyagok megkülönböztetésére, ugyanis ez az enzim a hal vörösvérsejtjeiben található, mely az érintetlen sejtben inaktív, a fagyasztás-kiolvasztás hatására viszont aktívvá válik. Meghatározása egy egyszerű, spektrofotometriás módszerrel megoldható. A friss, az egy-három napig négy fokon tartott hal alig mutat fluoreszcenciát, míg azok a halak, melyeket egy napig vagy annál tovább -20 és -40 °C-on tároltak, majd kiolvasztottak, erős fluoreszcenciát mutatnak. A glutaminsav oxálacetát transzaminázt eredményesen alkalmazták szarvasmarha-tőkehúsoknál a friss és a mélyhűtött húsok megkülönböztetésére.

Mivel az édesvízi és a tengeri halak enzimmészlete különböző, ezért **a különböző enzimaktivitásból a hal származására lehet következtetni**. Legújabbban az ATPáz és a laktátdehidrogenáz használatos a hidegen történő tárolás során bekövetkező romlás mértékének becslésére.

5.6.4. A tárolás során bekövetkező változások becslésére alkalmas indexek

Az élelmiszerek vagy élelmiszer-alapanyagok hosszú utat tesznek meg, amíg az előállítási helyükről eljutnak a fogyasztóhoz, és közben az **összetételük is kedvezőtlenül változhat**, mert a szállítási és tárolási körülmények, beleértve a hőmérsékletet és a pártartalmat, esetenként nem ideálisak. Különösen ezen két utolsó tényezőnek van nagy hatása a minőségre, ezért ezeket tanulmányozták kiterjedtebben. Ilyen esetben lehet egy olyan rendszert alkalmazni, amely segítségével a tárolási hőmérséklet és páratartalom az egész folyamat során végigkövethető, amíg az élelmiszer eljut a fogyasztó asztalára.

A tárolás során változhat a termék aromája, ha a csomagolás nem megfelelően aromazáró, a pH-csökkenés következtében megváltozhat a szín a kontrollált enzimatikus tevékenység következtében, melynek során zsírsavak keletkeznek, melyek csökkentik a pH-t. A gabonafélék tárolása során bekövetkező káros folyamatokra az ureáz enzim aktivitásának mérésével lehet következtetni, mely a nedves körülmények között végzett tárolás során jelentős aktivitást mutat.

Mikroorganizmusokat is alkalmaznak a tárolás során bekövetkezett hőváltozások becslésére, melyek közül legelterjedtebb a liofilezett tejsavbaktériumok használata, mely mint nem toxikus anyag, jól jelzi a tárolás során bekövetkezett változásokat, mert ha nő a hőmérséklet, megnő a baktérium aktivitása, ami megfelelő tápanyag és indikátor jelenlétében színváltozással jelzi a történéseket. A pszeudomonasz baktériumokat is alkalmazták elősorban tej és tejtermékek esetében a változások jelzésére, de alkalmasaknak bizonyultak a 18 – 42 °C tarto-

mányban a hőmérséklet becslésére félkész baromfihús esetében is. Több olyan módszert is kidolgoztak, amelyek **valamilyen színváltozással jelzik, ha a hőmérséklet a tárolás során jelentősen megnövekedett**, vagy a mikrobiális romlás során olyan anyagok, például szerves savak keletkeztek, amelyek valamely ok-szerűen megválasztott indikátor színét megváltoztatják. Az édesítőszer, például az aszpartám bomlása, ugyancsak a nem megfelelő tárolási feltételeket jelzi, és az aromaanyagok változása, például a limonén elbomlása a citrusfélék esetében, vagy epoxidok keletkezése is jelezhetik a nem megfelelő változásokat.

5.6.5. Az élelmiszerek besugárzását jelző indikátorok

Az élelmiszerek **alacsony dózisu besugárzása elfogadott technológia**, mellyel csökkenteni lehet a burgonya csírázását, meg lehet akadályozni a gyümölcsök romlását, a rovarok okozta kártételeket, és növelni lehet az eltarthatósági időt. A **túlzott besugárzás** azonban **káros változásokat is előidézhet**, és a legutóbbi idő-kig nem nagyon voltak olyan módszerek, amikkel a káros változásokat nyomon lehetett volna követni. Több fizikai, kémiai, mikrobiológiai és biológiai módszert is kidolgoztak a túlzott sugárkezelés kimutatására, melyek közül csak azoknak van jelentősége, ahol a változás lineáris a sugárkezelés intenzitásával. A fizikai módszerek az elektromos impedancia, a viszkozitás és a víztartó képesség mérésén, a kémiai módszerek a fehérjék, a lipidek, a szénhidrátok, a vitaminok, a nukleinsavak és az illó komponensek megváltozásán alapulnak. A többi módszer a sejtek morfológiai tulajdonságaiban, valamint szokványos mikroflórában bekövetkezett változásokat és a szabad gyököket méri kemilumineszcenciával, termolumineszcenciával vagy elektron spin rezonanciával.

A vizsgálatok során megállapították, hogy **a besugárzás jelentős mértékben megváltoztatja a csírázási képességet**, a sejtmag és a mitokondriumok membránja sérül, és kromoszómaaberrációk is felléphetnek. A sejtmembrán sérülése maga után vonja a membrántranszport sérülését is, így változás következhet be az elektromos vezetőképességben. A mikroorganizmusok eltérően reagálnak a besugárzásra, az érzékenyebbek elpusztulnak, a kevésbé érzékenyek túlélnek, így **besugárzás hatására jelentős mértékben megváltozik a mikroorganizmusok mennyisége, de főként aránya**. A baktériumok által termelt összes illó sav és összes illó nitrogén mennyiségét sikeresen használták fel a besugárzott és az attól mentes hal megkülönböztetésére, mely egy egyszerű rutinmódszerré forrta ki magát.

A fehérje minőségében is jelentős változások történhetnek a szükségesnél nagyobb mértékű besugárzás hatására, melyet elektroforézissel lehet nyomon követni. Nyolchetes korban levágott csirketesteket hat órán át 2 °C-on tartva (kontroll) és 6, 10 és 20 kGy-jel besugározva PAGE-vel vizsgálták a fehérjében bekövetkezett változásokat. Megállapították, hogy a kontroll- és **a besugárzott min-ták jelentős különbséget mutattak az elektroforetikus képet illetően**, ugyanis besugárzás hatására néhány kontrollhoz viszonyított csík (fehérjefrakció) eltűnt,

néhánynak az intenzitása megváltozott, és megjelent néhány olyan fehérjefrakció is, amely a kontrollmintában nem volt jelen. Ez utóbbi bizonyára a fehérje bomlásánál keletkezett új, megváltozott molekulatömegű frakciókat jelezte. Ezek mennyisége szoros összefüggést mutatott a besugárzás intenzitásával, így **a PAGE előnyösen alkalmazható a besugárzott csirkehús minősítésére.**

Besugárzás hatására olyan hidroxilcsoportot tartalmazó biomarkerek is létrejönnek, melyek koncentrációja jelzi a besugárzás erősségét. A fenilalanin tartalmú fehérjék besugárzása orto-, meta és para-tirozint eredményez, melyek markerei a besugárzásnak. Ezek közül az **orto-tirozint** könnyű a para-tirozintól kromatográfiai módszerekkel elválasztani, ezért ezt **használják széles körben markerként.** Eredményesen használták a csirkehús gamma-sugarakkal való kezelésének kimutatására, mert **mennyisége független a besugárzás után eltelt időtől.** Az eljárás során oldószeres extrakcióval eltávolítják a szabad tirozint, amely a kezeletlen húsban is jelen van, majd a fehérje sósavas hidrolízisét követően HPLC-vel meghatározzák az o- és p-tirozin tartalmat.

Amikor a nyers hús több mint 50% vizet tartalmaz, besugárzás hatására szabad hidroxilgyökök keletkeznek, melyek reagálhatnak a fehérjeépítő aminosavakkal, melynek során **2-hidroxi-fenilalanin keletkezik,** mely ugyancsak **jó jelzője a besugárzás mértékének.** Ezt a vegyületet egyébként a kontrollminták esetében is lehet hasznosítani az in vivo változások mérésére, amikor az élelmiszert mesterséges besugárzás egyáltalán nem érte. A besugárzás hatására a fehérjékben keresztkötések is kialakulhatnak, melyek markerként történő sikeres alkalmazásáról azonban nincsenek adatok.

A sugárzás hatására keletkező illó anyagok is indikátorai lehetnek a sugárzás intenzitásának. Mivel a legtöbb élelmiszer tartalmaz **lipideket,** ezek változásának nyomon követése sok élelmiszer esetében adhat hasznos információt a sugárkezelésről. A **fehérjékből is keletkezhetnek sugárzás hatására illó komponensek,** ezek azonban csak csekély mértéket képviselnek. Az izom és a kötőszövet lipidjei esetében a besugárzás semmiféle hatással sem volt a zsírsavösszetételre, illetve a neutrális lipidek trigliceridjeire.

A **besugárzás hatására hosszú szénláncú zsírsavak részben átalakulhatnak hosszú szénláncú szénhidrogénekké,** melyek mérésével a besugárzás intenzitására lehet következtetni. A legkézenfekvőbb markerek a tetradekaén, a hexadekadién és a heptadecén, melyek koncentrációja jelentős mértékben nő a besugárzás hatására, és amelyek koncentrációja HPLC-vel és főként GC-vel, lángionizációs detektálással kiválóan mérhető. A baromfihús besugárzásának mértékére a legalkalmasabbak a pentadecén, a tetradekadién, a heptadekadién és a hexadekatrién, melyek **a baromfihús fő zsírsavaiból, a palmitolajsavból és a linolsavból keletkeznek a besugárzás hatására.** Illékony szénhidrogének is keletkezhetnek a besugárzás hatására, melyek koncentrációja például a camembert sajt besugárzásának megállapítására alkalmas. A tridekán, az 1-dodecén, az 1-tetradecén és az 1-hexadecén, amelyek a mirisztinsav, a palmitinsav és

a sztearinsav radiolízise során keletkeznek, **sohasem fordulnak elő nem sugárkezelt sajtokban, sőt az érlelés és a tárolás során sem keletkeznek** ilyen vegyületek. A sugáradag meghatározása akkor lenne lehetséges, ha mindig **rendelkezésre állna nem sugárkezelt, eredeti minta**. A meghatározás során az illékony komponenseket vákuumdesztillációval eltávolítják, majd gázkromatográfiával azonosítják és mennyiségüket meghatározzák. A GC/MS módszert alkalmazták például a szén-hidrogének analízisére olyan tojás esetében, amelyet előzetesen 3 kGy-jel sugároztak be.

Az olyan ciklikus vegyületek, mint a 2-alkil-ciklo-butanonok, a hasonló szénatomszámú zsírsavakból keletkeztek nagyobb mennyiségben, a tiszta trigliceridek besugárzása után. A **2-dodecil-ciklobutanon** a palmitinsavból keletkezik a csirkehus 10 kGy-nél kisebb energiájú besugárzása során. Ez az anyag **a kezeletlen húsból nem fordul elő, hőhatásra sem keletkezik**, ezért **kiváló indikátornak tűnik a csirkehus besugárzásának vizsgálatakor**. A 2-tetradecil-ciklobutanon a sztearinsavból keletkezik a besugárzás hatására, melyet ugyancsak kimutattak a sugárkezelt csirkehusból. A sugárkezelt tojásból és sertéshúsból 2-dodecil-ciklobutanont és a 2-tetradecil-ciklobutanont mutattak ki, és ezen előbbi a csirkehus besugárzása mérésére a legjobb indikátornak tartják.

A **koleszterin oxidált származékai oxidatív körülmények között keletkeznek**, de képződnek vizes közegben ionizáló sugárzás hatására is. A reakció termékei az α - és β -epoxidok, a 6-ketokolesztanol és a 7-ketokolesztanol, melyek semmi más egyéb termékben sem fordulnak elő, és nem keletkeznek az auto-oxidáció során sem, ezért, mivel a sugárkezelt csirkehusból is kimutatták őket, **jó indikátorai lehetnek a csirkehus sugárkezelésének**. A koleszterin oxidált származékait a kloroform-metanol-vizes extrakciót követően szilárd fázisú extrakcióval dúsítják, majd mennyiségüket vékonyréteg- vagy gázkromatográfiával határozzák meg. Ezen utóbbi esetében a meghatározás alsó határa 10 $\mu\text{g/kg}$.

Ionizációs **besugárzás hatására a DNS szerkezete károsodik**, a hélixszerkezet felbomolhat, a bázisok átalakulhatnak, a ribóz és a foszfát közötti foszfodiészter kötés széteshet, és károsodhatnak a DNS és a fehérjék közötti kapcsolatok is. Meghatározva ezeket a károsodásokat, mennyiségükből a besugárzás mértékére lehet következtetni. A timin-glikol (5,6-dihidroxi-dihidrotimin) mind a DNS in vivo, mind a besugárzás hatására bekövetkező károsodása során is keletkezik. Ez utóbbi adta az ötletet, hogy potenciális marker lehet a besugárzás mértékének becslése során, melyet megerősített, hogy sugárkezelt búzából, rákókból és a csirkehusból is ki tudták mutatni. A meghatározás azon alapszik, hogy a timinglikol lúgos körülmények között instabillá válik, fragmentáció következtében acetollá alakul, amely aztán az o-aminobenzaldehiddel végbemenő kondenzáció során fluoreszkáló 3-hidroxiquinaldinné alakul, melynek mennyisége könnyen mérhető. A **DNS-besugárzás hatására keletkezett bomlástermékeit élelmiszerekből enzimatisz módszerekkel, HPLC-vel és a GC-MS-sel is ki lehet mutatni, de a DNS-fragmentumok meghatározására talán legjobb eljárás a mikroelektroforé-**

zis. Bár a többszöri lefagyasztás és felolvasztás is károsítja a DNS-t, a besugárzás hatására bekövetkező károsodásmintázat egészen eltérő az előbbitől, így ezt a gyors és egyszerű módszert előnyösen lehet alkalmazni a csirkehús, a paradicsom és a burgonya besugárzásának mérésére.

A mitokondriális DNS károsodása is jó indikátora lehet a sugárterhelésnek, mert védve van azokkal az enzimatis folyamatokkal szemben, melyek a fagyasztás és felolvasztás alatt a sejtmag DNS-eit károsítják, és úgy tűnik, a fagyasztás-kiolvasztás nincs hatással a stabilitására, ezért a bomlástermékek analízise megbízható eredményt adhat a besugárzás intenzitásának mérésére.

A termolumineszcencia egy olyan emissziós eljárás, melynek során a szabad gyökök által elnyelt fény melegítés hatására felszabadul, melynek mérése alkalmas a besugárzás mennyiségének mérésére. A nem sugárkezelt élelmiszerek nagyságrendekkel kevesebb fényt bocsátanak ki melegítés hatására, mint a sugárkezelték, **ezért a termolumineszcencia alkalmas lehet a sugárterhelés mérésére.** Fűszerek esetében a meghatározás során 5–25 mg fűszermintát 250 °C-ra hevítenek, majd 30 másodpercig mérik a fénykibocsátást, melynek mértékéből a sugárterhelésre tudnak következtetni.

A sugárterhelés mérésére felhasználják még a kemilumineszcenciát és az elektron spin rezonanciát is. Csontot is tartalmazó élelmiszerek esetén, amikor az élelmiszert sugárterhelés éri, a szabad gyökök csapdába esnek a csont kristályrácsában. A besugárzás által keltett **szabadgyökök elektron spin rezonancia jelet adnak, mely alkalmas a sugárdózis meghatározására.** Mivel a szabad gyökök mennyisége a besugárzás mennyiségével nő, ez a módszer alkalmas a sugárdózis mennyiségének mérésére. A szabad gyökök mennyisége független a csont tulajdonságaitól, a besugárzás hőmérsékletétől és a környező gázok minőségétől.

Egyéb módszerek a besugárzás intenzitásának mérésére a pigmentekben bekövetkező változás, az enzimaktivitás megváltozása, a szén-monoxid mennyiségének a mérése, valamint a sugárzás hatására keletkező hidrogén, szén-dioxid és metán mennyiségének elemzése.

5.7. Példák a közelmúltból az élelmiszerek hamisítására

5.7.1. Csecsemőtápszerek hamisítása melaminnal

2008-ban Kínában **6000 csecsemő és kisgyermek betegedett meg a tejporhoz kevert melamin miatt**, közülük 150-en súlyosan a veseműködés leállása következtében, **hatan meg is haltak.** A melamint azért keverték a tejporhoz, hogy megnöveljék annak „fehérjetartalmát”, így jobb áron lehessen eladni a vásárlóknak. A hamisítás akkor derült ki, amikor egy új-zélandi importőr észrevette a melamint a Kínából származó tejporban, és ezzel egy időben, Kínában, több gyereknél észleltek vesekövet.

Kína lakosságának jelentős része nem képes a tej fogyasztására, mert a laktóztolerancia miatt a tejcukrot nem tudják emésztani. Fogyaszthatnak azonban tejcukormentes vagy csökkentett tejcukortartalmú élelmiszereket, amelyek jelentős mértékben hozzájárulnak a lakosság állati eredetű fehérjeszükségletének kielégítéséhez.

A csalásra, hamisításra több okból kerülhetett sor. Egyrészt azért, mert **a melamin nitrogéntartalma 67%**, ami a hagyományos módszerekkel meghatározva és a 6,25-ös konverziós faktorral szorozva **419% nyersfehérje-tartalmat jelent**, tehát kis mennyiségű melamin bármilyen élelmiszerhez keverve annak nyersfehérje-tartalmát jelentős mértékben megnöveli. **Lehetővé tette ezt** sajnos **az a két módszer is**, amellyel világszerte meghatározzák a fehérjetartalmat, nevezetesen **a Kjeldahl- és a Dumas-módszer**. A Kjeldahl-féle eljárásnál a tömény kénsavas roncsolás során a melamin nitrogénjei ammóniává konvertálódnak, hasonlóan a fehérjében lévő nitrogénhez, tehát ezzel a módszerrel nem lehet különbséget tenni a két anyag között. A Dumas-módszernél pedig az összes nitrogéntartalmú vegyületet nitrogéngázzá konvertálják, és a nitrogén mennyiségéből határozzák meg a nyersfehérje-tartalmat.

De mi is a melamin? **A melamin egy magas nitrogéntartalmú, heterociklusos aromás szerves vegyület**, melyet a műanyagiparban és rovarölőszerként is alkalmaznak. Előállítás során kalcium-cianidból kénsavval ciánamidot szabadítanak fel, melyből enyhén lúgos közegben diciánamid keletkezik, ebből pedig 160 °C-on egy tautomer vegyületen keresztül gyűrűs, trimer termék, a melamin keletkezik. A melamin képlete $C_3H_6N_6$, **kémiai elnevezése 1,3,5-triazin-2,4,6-triamin**, molekulatömege 126,12 g/mol, fehér, szilárd, kristályos anyag, melynek oldhatósága vízben 20 °C-on 3,1 g/dm³. Minden szempontból ideális arra, hogy a tejpör fehérjetartalmát vele megnöveljék. A melaminhoz hasonló szerkezetű a cianuronsav és a szerkezetünkben képződő húgysav is. E vegyületek képesek egymással hidrogénhidkötések kialakításával **kristályokat képezni, melyek többek között a vesekő és húgykő kialakulásához vezethetnek**. Ezt bizonyítja az a tény is, hogy a betegek vesekőéből a melamin és a húgysav 1:1,2-2,1 arányú elegyét mutatták ki, tehát a szerkezetünkben **természetes úton keletkező húgysav a tejpörhöz hozzáadott melaminnal együtt okozta a vesekövet** és 6 kisgyermek halálát. A kisgyermekek azért is alkotják a fő veszélyeztetett csoportot, mert a felnőttekhez hasonlítva relatíve nagyobb mennyiségben választanak ki húgysavat. Még akkor sincs nagyobb probléma, ha a melaminmérgezést időben felismerik, mert a kőképződés savas közegben játszódik le, és ha a vizelet pH-ját nátrium-citráttal vagy nátrium-karbonáttal megemelik, a kőképződés nem játszódik le, a kisebb kövek pedig esetleg feloldódnak.

A melamin önmagában nem mérgező, LD₅₀ értéke 3000–6000 mg/testtömeg kg, a vérplazmából mintegy három óra felezési idővel ürül, de eközben is vesekőképződést, húgyhólyaggyulladást, sejtburjánzást és húgyhólyagrákot okozhat. Az Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóság szerint Európa lakosait nem fenyegeti veszély, ha vé-

letlenül fogyasztottak is a melamintartalmú tejporból, mert 0,2 mg/ttkg napi adag még elviselhető a szervezet számára. Mivel a melamin viszonylag gyorsan kiürül a szervezetből, ezek a szintek szinte teljesen biztonságosnak tekinthetők.

Milyen módszerrel lehet a tejpor melamintartalmát jelezni, illetve mennyiségét meghatározni? A melaminmeghatározás legelterjedtebb módszere a folyadékkromatográfia és a gázkromatográfia tandem tömegspektrométerrel kombinálva (HPLC/MS, GC/MS, MS/MS). A kromatográfiás módszerek azonban viszonylag drágák, speciális, nagy értékű műszereket kívánnak, és csak egy jól felszerelt laboratóriumban lehet alkalmazni azokat. Az olcsó és hatékony módszerek közül kiemelkedik az ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), mely immunanalitikai módszer az antigén és antitest (ellenanyag) reakcióján alapul, amelyek másodlagos kötőerőkkel összekapcsolódva komplexet hoznak létre. Az ELISA továbbfejlesztett változata, a szendvics immunoassay lényege az, hogy az antigén fehérje felületén több olyan hely található, melyhez ellenanyag kapcsolható.

A hagyományos eljárás szerint a mikrotiter lemez felületéhez antigéneket kötnek, melyhez hozzáadják a vizsgálni kívánt mintát. A felülethez kötött antigének és a minta-antigének versengenek az ellenanyaghoz való kötődésben. A kötődés után mosás következik, melynek során mindent eltávolítanak, ami nem kötődött az antigénhez, a felületen megkötődött ellenanyaghoz pedig hozzáadnak egy specifikus enzimmel konjugált ellenanyagot, melyhez az enzim szubsztrátját adva **egy színes termék keletkezik, melynek intenzitása fotométerrel mérhető.** A mért abszorbancia a vizsgálandó antigén (minta) koncentrációjával fordítottan arányos, mert minél több az antigén a mintában, annál több ellenanyagot köt meg, így annál kevesebb ellenanyag kötődik a felületen immobilizált antigénekhez.

A melamin ELISA-módszerrel történő meghatározásához szükséges a melamin ELISA kit, amely tartalmazza a mikrolemezekhez kötött melamin antitesteket, a torma peroxidáz enzim (HRP) által kötött melamint, és a peroxidáz kromogén szubsztrátját. Mind az ismeretlen mintát, mind a HRP-hez kötött melamint a mikrolemezekhez kötött melamin antitestekhez adják. Ezt követően mind a HRP-hez kötött, mind a szabad melamin kompetitíve az antitestekhez kötődik, melynek során a kötődési arány a koncentrációarányának felel meg. Ennek eredményeképpen a HRP-hez kötött melamin mennyisége függ a szabad melamin koncentrációjától. A megkötődést követően a meg nem kötődött anyagokat a mikrolemezekről mosással eltávolítják, majd a kromogén HRP-szubsztrátot adják a lemezhez. Ebben a lépésben a HRP-enzim aktivitása egyenesen arányos a HRP-hez kötött melamin mennyiségével, és arányos a mintában lévő szabad melamin mennyiségével is. Az utolsó lépésben **a HRP-enzim működését bizonyos inkubációs idő után leállítják, és a HRP-enzim reakcióban keletkezett színes vegyület koncentrációját 450 nm-en végzett fotometrálással mérik.**

A mérés során 1 ml tejmintát vagy ennek megfelelő tejporból készített folyékony mintát mértek egy centrifugacsőbe, majd 10 °C-on, 10 percig, 1500 g-n centrifugálták. 200 µl tejmintát pipettáztak egy tiszta kémcsőbe, 800 µl tesztfo-

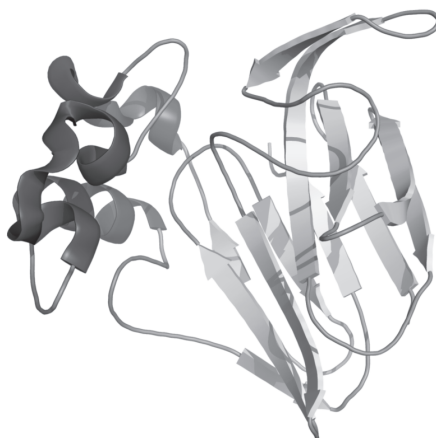
lyadékot adtak hozzá, gondosan összekeverték, melyet követően a minta kész volt a meghatározásra. A meghatározás során 100 vagy 150 μl melaminstandardot adtak az antitesttel borított lemezekhez. 50 μl HRP-hez kötött melamint adtak hozzá. A két anyagot rövid ideig kevertették, majd 30 percen keresztül szobahőmérsékleten inkubálták. Az összes meg nem kötődött mintát a lemez desztillált vizes mosásával eltávolították. A mosási lépéseket négy alkalommal, 300 μl térfogatú mosófolyadékkal megismételték. 100 μl HRP-szubsztrátot adtak mind-egyik lemezhez, majd a lemezeket 20 percig szobahőmérsékleten inkubálták. Az enzimreakciót 100 μl stop oldat segítségével megállították, majd a keletkezett színes anyag abszorbanciáját 450 nm-en mérték.

Az ismeretlen minta melamintartalmának meghatározásához **hitelesítő egyenest készítettek ismert koncentrációjú melaminstandardokkal, és a melamint nem tartalmazó mintát tekintették a zéró pontnak.** A kalibrációs egyenes segítségével az ismeretlen melamintartalmú minta abszorbanciáját felhasználva a melamintartalom számítható. Ez a módszer jól használható tejek és tejporok melamintartalmának mérésére, mert nem kíván jól felszerelt, drága laboratóriumokat és analitikai eszközöket, hanem a feladatot egy szerényen felszerelt laboratóriumban is, az ELISA kit-ek megvásárlása után, meg lehet oldani. Amennyiben az ELISA mérési eredmények pozitívak, mindenképpen javasolt a pozitív mintákat egy HPLC/MS/MS vagy egy GC/MS/MS laboratóriumban ellenőriztetni.

5.7.2. A taumatin édesítőszer hamisítása és annak kimutatására alkalmas módszerek

A taumatin egy 207 aminosavból álló fehérje, melyben dominál a β -szerkezet, és csak kis α -hélix szakaszok találhatók a molekulában. **Alacsony energiatartalmú édesítőszerként és ízmódosító anyagként alkalmazzák az élelmiszeriparban.** Első ízben Nyugat-Afrikában a katemfe gyümölcséből fehérjekeverékként izolálták, nagyobb mennyiségben pedig a taumatint a *Thaumacoccus deniellii* növény termésének külső burkából állítják elő 2,5–4,0 pH-n végzett vizes extrakcióval.

A kutatások során rájöttek arra, hogy egy egész **taumatin családról van szó,** némileg eltérő aminosav-összetétellel, melyekben közös, hogy **rendkívül édesek; és közülük néhány kétezerszer olyan édes, mint a répacukor.** A két legfontosabb fehérjét taumatin I-nek és taumatin II-nek nevezték el. Annak ellenére, hogy nagyon édes, az édes íz jelentősen különbözik a cukorétól, egyrészt mert **a taumatin édes íze csak lassan alakul ki,** másrészt **az édes érzet a cukornál sokkal hosszabb ideig tart.** Előnyös tulajdonsága, hogy vízben jól oldódik, nem érzékeny a hőre, és savas körülmények között stabil.



Jobb oldalon a β -lemezek, bal oldalon pedig az α -hélixek láthatók

A taumatinmolekula szerkezete

A növény életében a biológia szerepe a védekezésben van, ugyanis **a taumatin egy patogénellenes fehérje**, mely in vitro körülmények között meg tudja akadályozni a gombák szaporodását. Stressz és a patogénorganizmusok támadásakor a növény nagyobb mennyiségben termeli, ezért védekező mechanizmusának részét képezi. A taumatinhoz hasonló fehérjéket a kiviből és az almából is izoláltak, melyek az emésztőrendszeren áthaladva allergén hatásukat teljes mértékben elveszítették. Nyugat-Afrikában a katemfe gyümölcsét hosszú idő óta alkalmazzák élelmiszerek és italok édesítésére. Az Európai Unióban a taumatin engedélyezett édesítőszer (E957), és ugyancsak engedélyezték használatát Izraelben és Japánban is, míg az Egyesült Államokban csak aromaanyagként használják, édesítőszerként nem alkalmazzák.

Előállítás rendkívül munkaigényes és kis termelékenységgű folyamat, ezért a taumatin rendkívül drága édesítőszer. Egy kg gyümölcsből csak kb. 6 g taumatint lehet előállítani, viszont ez az egyetlen természetes édesítőszer, mely engedélyezett az Európai Unióban. Későn megjelenő, hosszantartó, likőrös utóízű, rendkívül erős édesítőszer, mely két-háromezerszer edesebb a répacukornál. **A szervezetben testépítő aminosavakká bomlik le**, és mivel rendkívül kis mennyiségben kerül alkalmazásra, energiatartalma gyakorlatilag nulla és a fogakra hatástalan. **Főzés és sütés hatására minimálisan változik, édesítő- és ízfokozó képességét megtartja**, és más alacsony energiatartalmú édesítőszerrel is jól kombinálható. Mivel természetes vegyület, **egészségügyi kockázatot nem jelent**. Különösen előszeretettel alkalmazzák kávéitalok, frissítőszer, gyümölcslevek, rágógumi, joghurtok, zselék és lekvárok édesítésére.

Mivel rendkívül drága anyagról van szó, **a taumatint előszeretettel hamisítják** cukrokkal, cukoralkoholokkal és mesterséges édesítőszerrel. A hamisítás

kimutatása során figyelemmel kell lenni szerkezetére, vagyis arra, hogy alapvetően két fehérje-főkomponenst tartalmaz, mely mellett megtalálhatók még az eredeti növényi anyagból származó kisebb mennyiségű komponensek is. Nitrogéntartalma nem kevesebb, mint 15,1%, mely fehérjére számolva 93%-ot jelent. Szagtalan, tejszínre hasonló színű por. Vízben nagyon jól oldódik, acetonban oldhatatlan.

Kimutatása és mennyiségének meghatározása többféle módszerrel történhet.

A **ninhidrinteszt** során 5 ml egyezrelékes taumatinoldathoz hozzáadunk 1 ml frissen készített ninhidrinoldatot (200 mg ninhidrint oldunk 100 ml vízben), majd összekeverés után kékes színű terméket kapunk. Melegítés hatására a szín intenzívebb lesz. A kimutatás a fehérjék és az aminosavak, valamint a ninhidrin közötti reakción alapul.

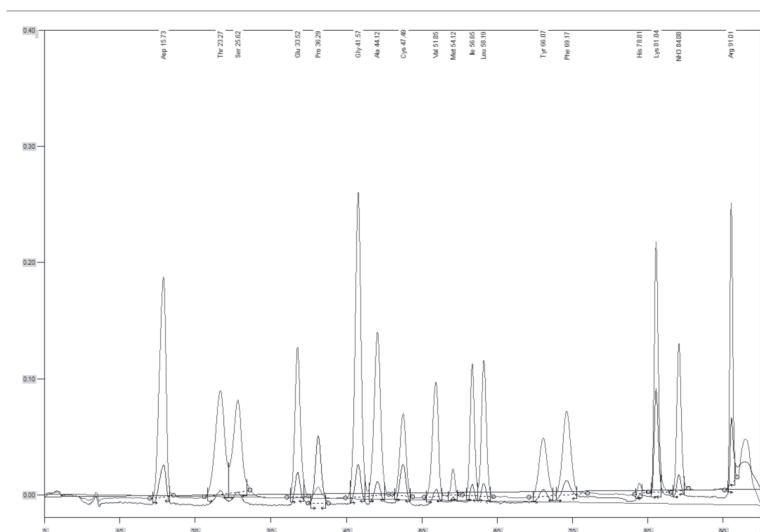
Ha van infravörös spektrofotométerünk, akkor felvehetjük a taumatin infravörös spektrumát, melynek során egy-két mg mintát 100–200 mg kálium-bromiddal keverünk össze, majd az elemzés során karakterisztikus maximumokat kapunk az alábbi hullámszámokon: 3300, 2930, 1650, 1529, 1452, 1395, 1237, 1103 és 612.

2-es pH-jú vizes oldatban **279 nm-en mutat abszorpciós maximumot**. Ha arra gyanakszunk, hogy a minta szénhidrátot tartalmaz, akkor elvégezzük a **szénhidráttesztet**, melynek során a mintát ciszteín-hidroklorid és 86%-os kénsav frissen készített elegyével reagáltatjuk. Jeges vízben, majd szobahőmérsékleten elvégzett reakciót követően **a szénhidrát mennyiségét 412 nm-en végzett fotometrálassal határozzuk meg** 10–100 µg/ml közti koncentrációtartományban felvett hitelesítő görbe segítségével.

Ha rendelkezésünkre áll egy nitrogénanalizátor, akkor meghatározhatjuk a minta nitrogéntartalmát mind Kjeldahl, mind Dumas módszerével, és **a nitrogéntartalom alapján következtetünk a minta minőségére**.

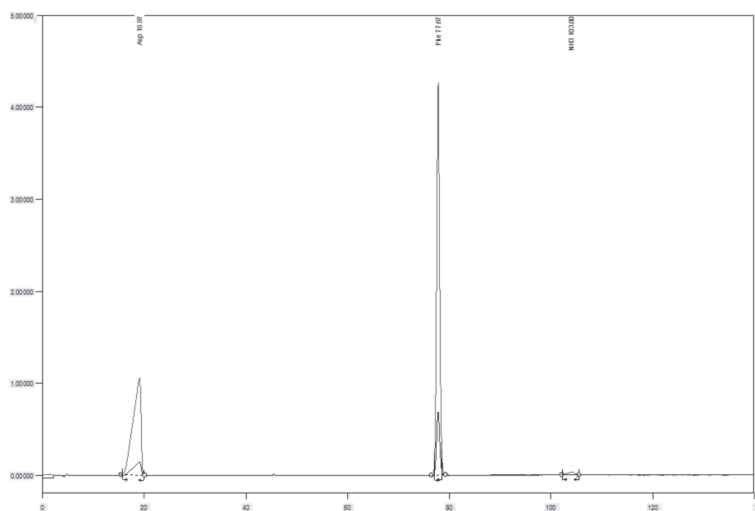
Az előzőekben felsorolt tesztek azonban nem specifikusak, más anyagok is adhatnak hasonló reakciókat, melyek a vizsgálókat tévútra vezethetik. **A legspecifikusabb dolog az aminosav-összetétel**, hisz a ma alkalmazott technikák segítségével az pontosan meghatározható, és a hamisítás ténye a nitrogéntartalom és az aminosav-összetétel alapján nagy valószínűséggel megállapítható.

A következő, gyakorlatból vett példa **a taumatin hamisításáról és annak kimutatásáról ad áttekintést** módszerként az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő aminosav-analízist alkalmazva. Egy távol-keleti országból származó „taumatinnak” nevezett anyagról szeretnék volna megtudni, hogy mi is valójában. Mivel a taumatin aminosav-összetétele ismert, kézenfekvő volt egy aminosav-összetétel-elemzést készíteni, melynek eredményeit az irodalomban közöltekhez hasonlítva el lehet dönteni, hogy **az aminosav-összetétel megfelel-e a taumatinénak**. A fentiek miatt egy standardra van szükség, melynek meghatározzuk az aminosav-összetételét. Az első kromatogram egy finomvegyszergyárból beszerzett analitikai tisztaságú taumatin aminosav-összetételét mutatja.



Az analitikailag tiszta taumatin standard kromatogramja

A kromatogramból látszik, hogy **a taumatin minden fehérjeépítő aminosavat tartalmaz**, relatíve nagy az aszparaginsav-, a prolin-, a glicin-, a lizin- és az arginintartalma. Ezt követően elvégeztük különböző „taumatin”-minták aminosav-összetételének a meghatározását, melynek során a következő kromatogramokat kaptuk.

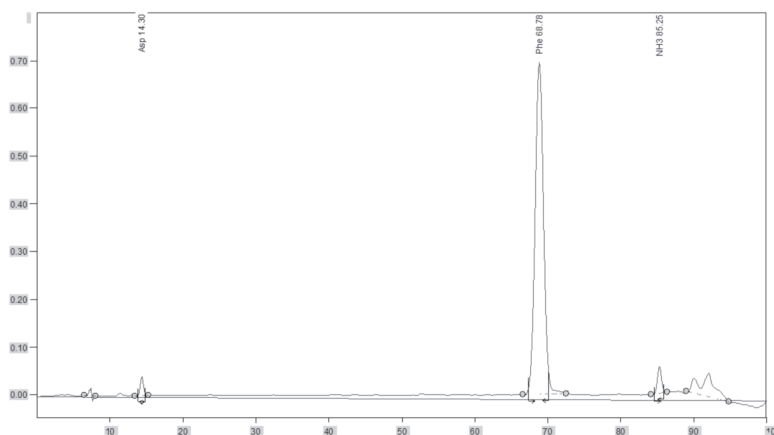


Az első „taumatin”-minta kromatogramja

A mintából aszparaginsav és fenilalanin, valamint minimális mennyiségű ammónia volt kimutatható, ami az aminosavak bomlásából keletkezhetett a hidrolízis során. Az aminosav-analízis eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza.

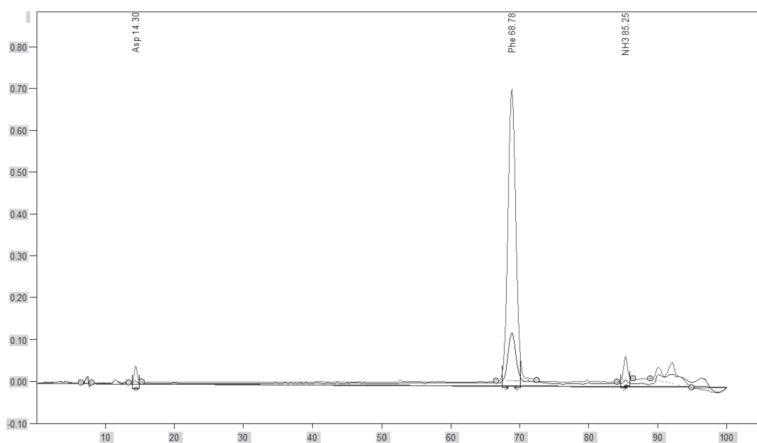
A minta és a vegytiszta taumatin aminosav-összetétele

Megnevezés	„Taumatin”		SIGMA Taumatin	
Aminosav	gAS/100g minta	gAS/100g fehérje	gAS/100g minta	gAS/100g fehérje
Aszparaginsav	36,93	41,7	12,65	13,4
Treonin	-	-	7,80	8,3
Szerin	-	-	5,08	5,4
Glutaminsav	-	-	6,60	7,0
Prolin	-	-	5,49	5,8
Glicin	-	-	7,03	7,5
Alanin	-	-	5,53	5,9
Cisztin	-	-	4,78	5,1
Valin	-	-	4,21	4,5
Metionin	-	-	0,66	0,7
Izoleucin	-	-	3,84	4,1
Leucin	-	-	4,20	4,5
Tirozin	-	-	5,33	5,7
Fenilalanin	51,42	58,0	6,64	7,1
Hisztidin	-	-	0,26	0,3
Lizin	-	-	6,10	6,5
Ammónia (NH ₃)	0,23	0,3	1,16	1,2
Arginin	-	-	6,74	7,2
Triptofán	-	-	-	-
Összeg	88,58	100,0	94,1	100,2



A második „taumatin”-minta kromatogramja

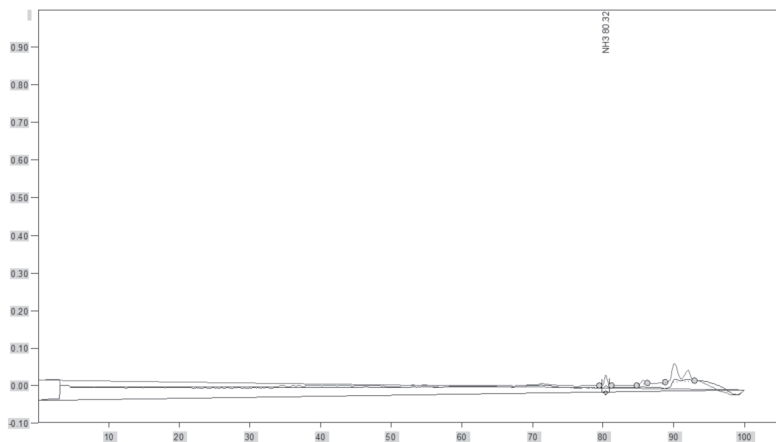
A minta egy minimális mennyiségű aszparaginsavat tartalmazott, míg legnagyobb részét a fenilalanin tette ki. Némelyik ninhidrin pozitív vegyület mutatkozott az ammónia, a lizin és a hisztidin retenciós idejénél.



A harmadik „taumatin”-minta kromatogramja

Gyakorlatilag a második és a harmadik minta aminosav-összetétele megegyezett, és mindkettőre **jellemző volt a fenilalanin túlnyomó mennyisége**. A fentiek alapján **az első mintánál talán aszpartámról is gyanakodhatnánk**, a második és a harmadik mintánál azonban az aszparaginsav mennyisége ehhez kevés, a gyanú bizonyításához több aszparaginsavnak kellene a mintában jelen lennie. **Hogy**

valójában a fenilalanin milyen formában van jelen a mintában, elvégeztük a minták szabad aminosav-tartalmának meghatározását, egy citrátpufferes kioldás után, melyet követően a következő kromatogramot kaptuk.



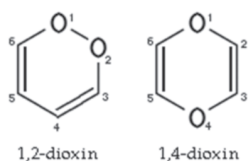
A „taumatin” szabad aminosavainak kromatogramja

E kromatogramból meg tudtuk állapítani, hogy a minta nem lehet aszpartám, se szabad aminosav (aszparaginsav, fenilalanin), mert azok jelen lennének a kromatogramon, nem lehet di- és tripeptid, mert azok is mutatkoznának, csak oligopeptid vagy annál nagyobb (több mint 10 aminosav a peptidláncban) molekuláról lehet szó. A minta valószínűleg polifenilalanin, az a legrégebbi mesterséges fehérje, melyet még az aminosavak kódjainak megfejtése előtt mesterségesen, lombikban előállított DNS-sel (poli-uridin) állítottak elő, hisz a polifenilalanin kódja UUU. Néhány „taumatin”-mintánál szabad aszparaginsavat se tudtunk kimutatni, mely arra utal, hogy a minimális mennyiségű aszparaginsav is kötött formában fordul elő a mintában.

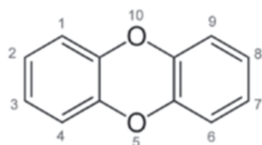
A fentiek alapján tehát megállapítható a hamisítás ténye, hisz a tiszta taumatin aminosav-összetétele annyira jellemző a fehérjére, hogy ahhoz, ha bármit hozzákevernek, legyen az szabad aminosav vagy aszpartám vagy akármilyen peptidszármazék, az lényeges eltérést okoz az eredeti aminosav-összetételtől, tehát kimutatható. A kromatogramok **ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő aminosav-analizátorral készültek**, de hamisítás kimutatására **alkalmas lehet a HPLC is oszlop előtti származékképzéssel**, vagy a gázkromatográfia, az illó aminosav-származékok képzését követően.

5.7.3. Az élelmiszerek dioxintartalma és hatása az emberi szervezetre

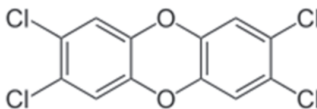
A dioxin, más néven p-dioxin, kémiai képlete $C_4H_4O_2$, moláris tömege 87,07 g/mol, igen lobbanékony, mérgező, színtelen folyadék. Heterociklusos vegyület, melynek két izomere létezik, az 1,2-dioxin vagy más néven o-dioxin, és az 1,4-dioxin, vagy más néven p-dioxin. Az orto izomer peroxid szerkezete miatt igen labilis, keletkezésekor könnyen elbomlik. A dioxin általánosságban annak a vegyületcsoportnak a neve, melynek tagjai, szubsztituált származékai környezetszennyezők és mérgezők, és amelyeket a szakirodalom poliklór-dibenzodioxinnak (PCDD) hív. **A dioxin elnevezés általánosságban mindazon szerves vegyületekre is vonatkozhat, melyek szerkezetére jellemző a dioxinváz, vagyis a dioxinhoz képest helyettesítő atomcsoportok is vannak benne.** Ilyen például a dibenzo-p-dioxin, melyben a dioxinváz mellett jobb és bal oldalról két benzolgyűrű is található, mely a PCDD család alapvegyülete. A szakirodalom dioxinnak nevezi a dibenzo-p-dioxin klórozott származékait is, melyeket poliklór-dibenzo-dioxinoknak hívnak.



Az 1,2 és az 1,4 dioxin szerkezete



A dibenzo-p-dioxin szerkezete



A 2,3,7,8- tetraklórdibenzo-p-dioxin (TCDD) szerkezete

A poliklór-dibenzodioxin egy vegyületcsoport neve, amelyekben az 1,4-dioxin alapvegyület benzolgyűrűi néhány hidrogénjét klór helyettesíti. A klóratomok elhelyezkedése miatt mintegy 75 izomere van, melyek közül a 2,3,7,8-tetraklór-dibenzo-p-dioxin vagy más néven 2,3,7,8-tetraklór-dibenzo[1,4]-dioxin (rövidítve TCDD) a legveszélyesebb mérgező hatású anyag. **A kiemelkedő mérgező hatása miatt az elmúlt évek kutatásai erre a vegyületre összpontosultak,** a többi izomert gyakorlatilag figyelmen kívül hagyták, és a legtöbbször erre a vegyületre gondolunk, amikor a dioxin szót használjuk.

A dioxin az ember környezetében mindig is előfordult, mert az **égetés, fával való tüzelés során jelentős mennyiségben keletkezik**, azonban mennyisége környezetünkben az ipari forradalom óta megháromszorozódott. Ma már a dioxin minden olyan ember szervezetében megtalálható kisebb-nagyobb mértékben, akik jelentősebb ipari üzemek környékén élnek. Először nagyobb mennyiségben a vietnami háború során az Agent Orange gyomirtószer szennyezéseként került a környezetbe, mellyel az amerikai katonák az őserdőket próbálták kiirtani.

A dioxin azért is rendkívül veszélyes, mert **zsírban jól oldódik, és a szervezetbe jutva a zsírszövetben raktározódik**. Főként jelentős zsírtartalmú élelmiszerekkel, hallal, hússal, tejjel és tejtermékekkel kerül az emberi szervezetbe. A dioxinok a környezetünkben folyamatosan keletkeznek többek között a tüzelés során, és **különösen jelentős mennyiségű dioxin keletkezik akkor, amikor műanyag (PVC) tartalmú szemetet nem megfelelő hőfokon égetnek**, ugyanis a PVC-t 700–800 °C-on égetve jelentős mennyiségű dioxin keletkezhet. A műanyag hulladékot ezért 1200 °C felett kell égetni, megakadályozva ezzel a dioxin képződését.

A lakosság azon része különösen veszélyeztetett a dioxinnal kapcsolatban, akik foglalkozásuk következtében **klórozott szerves anyagokkal**, például gyomirtó szerekkel **kerülnek nap mint nap kapcsolatba**. Ugyancsak veszélyeztetettek az ilyen szereket előállító vegyi gyárak környezetében élők, mert a dioxin nemcsak akkor keletkezik nagyobb mennyiségben, ha klórtartalmú szerves oldószert égetnek el, hanem akkor is, ha a szerves vegyületek klórtartalmú szervesetlen vegyületek jelenlétében égnak. A dioxin vegyületek 80%-áért felelős legfontosabb szennyező források az alábbiak: fa- és széntüzelésű berendezések, hulladékégetők, olvasztókemencék, dízelmotorok, szennyvíziszap, gombaölő szerekkel kezelt fa elégetése, háztartási szemét égetése. A megfelelő technológiával történő szeméttégetés az utóbbi időben jelentősen mérsékelte a környezetbe jutó dioxin mennyiségét.

Jelentős szennyező forrás lehet még a papír- és textilfehérítés, a fenol klórozása, a pentaklór-fenol és más klórtartalmú vegyszerek gyártása, ezen kívül **még a cigarettafüstnek is az alkotórésze**. Megtalálható olyan mindennapi eszközeinkben, mint a műanyagtárgyak, fehérítők, gyanták, csomagolóanyagok stb., tehát **normál körülmények között is szinte mindennap kapcsolatba kerülünk a dioxinnal**. Megállapították azt is, hogy **az anyatejjel jelentős mennyiségű mérgező anyag kerülhet be a csecsemő szervezetébe**, ez a hatás azonban elenyésző az anyatej egyéb kedvező hatásaihoz viszonyítva.

A dioxin a zsíros ételekkel kerül a szervezetbe, és ott a zsírszövetben raktározódik, onnan sem az anyagcsere-folyamatokkal, sem a bélsárral nem távozik. Izotópos vizsgálatokkal **felezési idejét a szervezetben hét és 135 év közöttinek találták**, mely nagy különbség a szennyező anyagok koncentrációjával és sokféleségével magyarázható. A TCDD esetén átlagosan nyolc évvel számolnak, ami a többi káros anyaghoz viszonyítva még így is rendkívül hosszú idő.

A dioxin mérgező hatásával kapcsolatban bevezették a „mérgezőképességi egyenérték szorzót” (Toxicity Equivalence Factor), melynél a legmagasabb érté-

ket a legmérgezőbbnek tartott 2,3,7,8-tetraklórbenzo[1,4]-dioxin kapta. Ismert az „összes dioxin mérgezőképességi egyenérték” is (Total dioxin toxic equivalence value), mely a dioxinszármazék-keverékek mérgezőképességét a tiszta PCDD mérgezőképességéhez viszonyított aránnyal fejezi ki. Valójában megállapítást nyert, hogy akármilyen származékkeverékről is van szó, a **mérgező képesség arányos volt a legmérgezőbb, 2,3,7,8 tetraklórdibenzo[1,4]-dioxin arányával.**

Milyen mértékben mérgező a dioxin a többi szervezetünkbe kerülő mérgekhez hasonlítva? A dioxin LD₅₀-értéke tengerimalacnál 0,0006–0,002; Rhesus majomnál 0,070; patkánynál 0,022–0,045; kutyánál 0,10–0,20; hörcsögnél pedig 1,16–5,05 mg/ttkg. Ugyanez az érték botulinotoxinra 0,000000001 mg/ttkg, tehát megállapítható, hogy **a dioxin nem tartozik a legmérgezőbb vegyületek közé** az ember esetében, hisz vannak olyan adatok, hogy az ember a hörcsögnél is jobban elviseli a dioxint, tehát **az ember a dioxinnak ellenálló fajnak tekinthető.** Ennek oka valószínűleg az, hogy az ember a tűz feltalálása óta folyamatosan kapcsolatba került a dioxinnal, bár az ipari tevékenység következtében annak koncentrációja hirtelen többszörösére nőtt a környezetben. Az **ember tehát hozzászokott a dioxinhoz,** és a kis mennyiségű dioxint jól el tudja viselni.

Milyen hatással van a dioxin az emberi szervezetre? A dioxin a táplálkozás útján kerül az emberi szervezetbe, elsősorban az állati eredetű élelmiszerek kapcsán, a biológiai felhalmozódás következtében. **A dioxin által okozott legismerőbb betegség a klórakne,** az arcot eltorzító bőrbetegség. Hatással van ezen túl a gyermekkori fogzománc-fejlődési rendellenességek kialakulására, a központi és a környéki idegrendszert érintő megbetegedésekre, a pajzsmirigy rendellenes működésére, károsítja az immunrendszert, cukorbetegséget okozhat, és befolyásolja a normális fiú/lány ivararányt. Állatoknál teratogén, mutagén, karcinogén hatást tudtak kimutatni, és káros hatással volt az immunrendszerre, a májra, a belső elválasztású mirigyekre és a növekedésre.

Emberekben természetesen ilyen kísérleteket nem végeztek, de a Vietnamban harcoló katonák esetében **a dioxin hatása utódaik születési rendellenességében mutatkozott meg** elsősorban. A katonák szervezete még évekkel később is 300–600-szor nagyobb dózisban tartalmaz TCDD-t (600 pg/kg), mint a lakosság átlaga. Az alkalmazott **gyomirtó szer következtében nőtt az élelmiszerek dioxintartalma,** és szintje jelentősen nőtt a területen élő vadállatok testében is.

Milyen módszerek alkalmasak élelmiszerek dioxintartalmának meghatározására? **A dioxin meghatározására különösen alkalmasak a kromatográfiás módszerek,** mind a HPLC, mind a GC, különösen akkor, ha detektorként tömegspektrométert alkalmaznak. Sok helyen alkalmazzák a dioxin analízisére a gázkromatográfiát elektronbefogásos detektorral, lángionizációs detektorral vagy tömegspektrométerrel vagy ezek kombinációjával csatolva. Nagyon érzékeny módszerekre, illetve detektorokra van szükség, mert a dioxin koncentrációja a mintákban pg/g, esetleg pg/liter koncentrációtartományba esik. Az érzékenység növelésének egyik lehetősége a minta mennyiségének növelése, illetve nagyobb

mennyiségű minta juttatása a gázkromatográfbba, ez azonban jelentősen megnöveli az előkészítő műveletek idejét. A GC/MS kombinációja a nagy mennyiségű injektálással nem rontotta a hatékonyságot a split és a splitless injektáláshoz viszonyítva, az érzékenység azonban egy-két nagyságrenddel javult.

5.7.4. A méz hamisítása és annak kimutatása

A méz ősidők óta kedvelt élelmiszere az emberiségnek, és a kőkorszak óta a történelem során ez volt a legfontosabb anyag, amellyel élelmiszereit édesíteni tudta. A méhek állítják elő növényi nektárból, nedvekből vagy a levéltetvek váladékából, melyet saját enzimeikkel részben átalakítanak, majd beszárítanak és a lépekben tárolnak. **Eredetét tekintve lehetnek mézharmat mézek**, melyeket a nedvszívó rovarok kiválasztott édes váladékából állítanak elő, és **nektárból származó virágmézek**. Édes ízét a benne lévő mono- és oligoszacharidok, főként a fruktóz vagy gyümölcscukor, zamatukat pedig a bennük lévő illóolajok okozzák, melyek mennyisége változik a tárolás során.

A méz alapanyaga tehát a nektár vagy a levéltetvek által kiválasztott édes szirup, azonban sajnos **az ember is készít mézet különféle szénhidrátokból enzimek hozzáadásával**, de ennek a minősége és egyéb, az emberi szervezetre kiváló hatása messze elmarad a méhek által készített mézétől. **A hamisított mézet vagy önmagában, vagy mézhez keverve értékesítik**. Ez a mesterséges méz nem káros az emberi szervezetre, azonban eredetmegjelölés nélküli mézhez keverése hamisítás, ami ellen a becsületes méhészek és a saját jól felfogott érdekeink miatt is küzdeni kell. **A mézhamisítók legtöbbször azt az olcsón előállítható izocukrot használják, amit a méhek visszautasítanak**.

A méz átlagosan 38% fruktózt és 30% glükózt tartalmaz, de van benne ezen túl még szacharóz, melitózt valamint egyéb di-, tri- és poliszacharid is. Tartalmaz ezen kívül még minimális mennyiségben ásványi anyagokat, fehérjéket, szabad aminosavakat, enzimeket és hormonokat, ezek koncentrációja azonban olyan csekély, hogy hatásuk az emberi szervezetre, a többi élelmiszerhez képest, elhanyagolható. Sajnos ellent kell mondani annak a közhiedelemnek, hogy a méz jelentős fehérje-, aminosav-, ásványi anyag- és vitaminforrás lenne, mert ezek a komponensek csak jelentéktelen mennyiségben fordulnak elő benne. **Általános jó hatása a szervezetre a könnyen emészthető szénhidráttartalmának köszönhető**.

A hazánkban forgalmazott mézfajták és azok legfontosabb tulajdonságai: A **vegyes virágmézre** jellemző, hogy többféle növényfaj virágorát és nektárját tartalmazza, melynek színe és íze a növényfajoktól függ. A **repceméz** színe fehér elefántcsontszínű, íze karakteres, gyorsan kristályosodik, ezzel szemben az **akácméz** sokáig folyékony marad, világos aranyárga színű, íze nagyon kellemes, az egyik legkeresettebb mézfajta. A **napraforgóméz** világos narancssárga színű, gyorsan kristályosodó fajta, míg a **hárméméz** világoszöld, néha sárgászöld, gyümölcsös ízű, enyhén mentás, nagyon édes mézfajta. Ismert mézek még a szelídgesztenyeméz,

mely vörösesbarna színű, erőteljes ízű, nehezen kristályosodó mézfajta, és a facéliaméz, mely fehér színű, jellegzetes aromájú. Ismeretes még hazánkban az eukaliptuszméz, a kakukkfűméz és a hangaméz, valamint a mézharmatméz, melyek között ismertebbek az erdei méz, a mézharmatméz (lombos fákról) és a fenyőméz.

A mézfajtákat egymáshoz is keverhetik, de az igazi mézhamisítás az, amikor a nagyobb haszon elérése érdekében a méztől és a méhektől teljesen idegen anyagokat kevernek a mézhez. Ennek következtében jelentősen megváltozik a mézek zamata, viszkozitása, kristályosodásra való hajlama, de legfőképpen élvezeti értéke. Ha mézhez idegen anyagot kevernek, akkor az nem nevezhető méznek, ha mégis ilyen néven hozzák kereskedelmi forgalomba, akkor mézhamisítást követnek el. A szabályozás visszássága, hogy ha egészségre nem ártalmas anyagokkal hamisítják a mézet, akkor az nem büntethető.

A méz hamisítására régebben alkalmazták a keményítőt, **a mézhez lisztet kevertek**, ami egy egyszerű keményítőtesszttel kimutatható. **Vizezték is a mézet**, amire ugyancsak könnyű volt rájönni. A fruktóz hozzáadásával a méz kristályosodása gátolható, de a fruktóz drágasága miatt ez a módszer nem terjedt el a gyakorlatban. **Legújabban izocukorral próbálkoztak**, melyet kukoricából állítottak elő, és melynek oldatát addig párolták be, míg annak viszkozitása nagyon hasonlított a mézére. Mivel az íze semleges, **a fogyasztó a hamisítást alig veszi észre**, melyre csak a nagyműszeres analitikai technikák alkalmasak.

A mézhamisítás leleplezésére több nagyműszeres eljárást dolgoztak ki, melyek közül a **szénizotópok elemzése** azon alapszik, hogy a cukornád és a kukorica fotoszintézise más úton megy végbe, mint a mérsékelt égövben élő növényeké, így **megváltozik a cukor széntartalmának izotópeloszlása**, míg **a fehérje izotóp-összetétele nem változik**. Az izotóparány változásának mérésével a hamisítás kimutatható. Ugyancsak alkalmazzák a **HPLC-t** is az izocukor kimutatására, mellyel ugyancsak a hamisítás leplezhető le.

Mielőtt azonban a nagyműszeres technikákat ismertetnénk, néhány ötlet a hamis vagy **rossz minőségű mézek felismerésére**. Az éretlen, magas víztartalmú mézek könnyen megromlanak, ezért idő előtt nem szabad a méz pergetéséhez fogni. A méz vizezését könnyen tudjuk ellenőrizni, ha az üvegben lévő mézet a feje tetejére állítjuk, és ha a benne lévő gázbuborék gyorsan halad felfelé, akkor a mézet nagy valószínűséggel vizezték. Ügyeljünk a hőmérsékletre is, mert a nagyobb hőmérsékletű mézek viszkozitása kisebb, ami megtévesztő lehet a vizsgáló számára, a hűtött mézben viszont a buborék mozgása lelassul. Ha a méz színe és állaga vagy zamata és illata eltér a szokásostól, akkor **a mézet melasszal, glicerinnel, mesterséges aromákkal stb. hamisították**. Az invertcukorral hamisított mézet felismerhetjük, ha egy kávéskanálnyit tiszta szeszben feloldunk: amennyiben teljesen oldódik, akkor valódi mézről van szó, ha az oldat opálos lesz, majd üledék keletkezik, akkor a mézet hamisították.

A Codex Alimentarius definíciója szerint **a méz semmilyen idegen élelmi anyagot nem tartalmazhat**, csak amit a méhek maguk állítanak elő, és **a mézből**

semmilyen komponenst nem lehet eltávolítani. Nem tartalmazhat semmiféle olyan kifogásolható anyagot, mint amilyenek a növényekről származó vegyszerek, vagy amelyek a kezelés és tárolás közben kerülhetnek bele. A méz nem indulhat erjedésnek, **nem lehet belőle a polleneket és a mézre jellemző egyéb anyagokat eltávolítani,** nem szabad hőkezelní, és semmi olyan technológiát nem lehet alkalmazni, ami megváltoztatja a méz tulajdonságait.

A méz édes ízű anyagokkal való hamisítása a legszélesebb körben alkalmazott eljárások egyike. Mivel a méz ára viszonylag magas, ezért régóta hamisítják, aminek következtében a hamisító jelentős gazdasági haszonra tehet szert. **Az édes anyagokat közvetlenül hozzá lehet keverni a mézhez, vagy a nektárhordás idején tudják a méhek táplálékát az édes anyagokkal kiegészíteni.** A leggyakrabban alkalmazott ilyen anyagok a cukorszirup és a melasz, melyben a cukrot savas vagy enzimatisus módszerekkel invertálták, és az előállítás alapja a kukorica-, a cukornád-, a cukorrépa- vagy a juharszörp. Sok módszert kidolgoztak a mézhamisítás leleplezésére, azonban még mindig nincs olyan módszer, amely ezt a feladatot tökéletesen meg tudná oldani.

A hamisítás kimutatására alkalmazták a mikroszkópos analíziseket, a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotóp arány mérését, a magmáneses rezonanciát, a kromatográfiás eljárásokat a cukrok kimutatására, a kapilláris gázkromatográfiát a mézben elő nem forduló oligoszacharidok kimutatására, jelenleg pedig különféle spektroszkópiás módszerekkel próbálják a nádcukrot kimutatni, ami meglehetősen nehéz a méz változatos természetes előfordulása miatt. Amikor a méheket etették ilyen hamisításra alkalmas anyagokkal, az infravörös spektroszkópia és a fluorometria alkalmatlan volt a hamisítás kimutatására.

Mivel a méhek magas víztartalommal gyűjtik be a nektárt, illetve ha a mézhez mesterségesen vizet kevernek, **lehetőség van arra, hogy a méz erjedni kezdjen.** Az erjedést először a gombák mikroszkópos elemzésével ellenőrizték, ez a teszt azonban nem hozott megfelelő eredményt, ugyanis a gombák egy része inaktív a mézben, a fermentációhoz nem járul hozzá. Az erjedés termékeinek mérésével, mint amilyen például a glicerín és az alkohol, azonban jelentős eredményeket értek el.

A kikristályosodott mézet nem szabad a felolvasztás érdekében jelentős hőkezelésnek kitenni, mert **a hőkezelés során az illékony komponensek egy része elpárolog,** megjelenik a nem kívánatos hidroximetil-furfurol (HMF), és a hő hatására megszűnik az invertáz és a diasztáz aktivitás is. **A hőkárosodás kimutatására mind a HMF-koncentráció mérése, mind az enzimaktivitás csökkenésének elemzése alkalmas** lehet, bár a méz nem megfelelő tárolása is okozhatja az enzimaktivitás csökkenését és a HMF-tartalom növekedését.

A méz szűrése is a hamisítás lehetőségét rejti magában. A mézet nem lenne szabad 0,2 mm-nél kisebb lyukbőségű szitával szűrni, mert az a **polleneket is eltávolítja belőle,** és mivel a pollenek nagyon fontos információt adnak a botanikai és a földrajzi eredetről, a **pollenek eltávolítása lehetőséget ad a hamisítás-**

ra, illetve a földrajzi eredet is meghatározhatatlanná válik. Az ilyen mézet csak „Szűrt” megnevezéssel lehet forgalomba hozni.

Az organikus mézet olyan körülmények között állítják elő, mely megfelel a hagyományos kaptáros méhtartásnak, és a méhek környezete is megfelel a természetesnek. Az organikus méz nem tartalmaz semmi olyan gyógyszermaradványt, amellyel az állatokat kezelik. Amennyiben mégis tartalmazna ilyen szereket, az organikus jelölést nem szabad alkalmazni. A természetes méz megnevezést nem lenne szabad alkalmazni, mert a megnevezés félrevezető. A nyers vagy nem hőkezelt méz elnevezés is félreérthető, mivel a nektár gyűjtése és a méz előállítása során nincs semmiféle hőkezelési lépés. Az előírások nem engedik meg a méz túlzott hőkezelését, **a kéméletes pasztörözés azonban semmiféle lényeges elváltozást nem okoz a méz összetételében.** A pasztörözést a méz esetében nem kell külön jelölni, azonban **az organikus méz pasztörözése nem megengedett.**

A méheket tilos nem regisztrált gyógyszerekkel kezelni, tehát ha ilyen anyagot fedeznek fel egy mintában, akkor azt nem lehet kereskedelmi forgalomba hozni. Ugyanilyen elbírálás alá esik az is, ha a méz antibiotikumokat tartalmaz.

A pollenanalízis a legelterjedtebb eljárás a méz fajtájának és eredetének meghatározására. Mivel a méhek a nektárgyűjtés során több virágot is felkeresnek, teljes mértékben egy növénytől származó méz nem létezik. A különböző növényektől származó mézek különböző érzékszervi és fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek. A pollenanalízis a klasszikus módszer a botanikai eredet meghatározására, bár a pollentartalomban mutatkozó nagy variációk miatt figyelembe kell venni a méz érzékszervi és fizikai-kémiai tulajdonságait is. A másik módszer szerint a méz eredetét a cukortartalom, az elektromos vezetőképesség, az optikai aktivitás és például a nitrogéntartalom alapján határozzák meg. Ezen utóbbi módszerek kombinációjával el lehet dönteni, hogy a méz milyen növényfajtól származik, bár az így kapott eredmények nem lehetnek perdöntőek. **Újabban az aromakomponenseket is bevonták az analízisbe,** amivel jelentős eredményeket értek el a mézek azonosítása területén. A fluorometriát és az infravörös spektroszkópiát is alkalmazzák a méz legfontosabb paramétereinek meghatározására.

A méz földrajzi eredetének meghatározása is nehéz feladat. A gazdaságilag fejlett országok sok olcsó mézet importálnak Távol-Keletről vagy Dél-Afrikából, melyek lényegesen olcsóbbak, mint a helyi mézek, ami gazdasági okokból felveti az eredet meghamisításának lehetőségét. **A pollenanalízis alkalmasnak tűnik a földrajzi eredet meghatározására,** mivel jelentős különbségek vannak a különböző földrajzi környezetből származó mézek pollenösszetételében. Azonban ha egymáshoz közeli helyekről kell döntést hozni, akkor a pollenanalízisnél érzékenyebb módszerre van szükség. **Újabban a stabil izotópok tömegspektrometriás analízise mutatkozik ígéretes módszernek,** ahol nem a növényi eredetet, hanem az esővíz összetételében fennálló különbségeket analizálják, és ennek alapján hoznak döntéseket a földrajzi környezetről.

A mézhamisítás kimutatására alkalmas módszerek rövid ismertetése után két, a nemzetközi gyakorlatban alkalmazott módszer részletesebb ismertetése következik.

A méz hamisításának kimutatása a fehérje és a cukorkomponensek $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stabil izotópjainak segítségével elemanalízis, folyadékkromatográfia és izotóparány tömegspektrometria kapcsolt technikák alkalmazásával

Hazai viszonyaink között a méhek a mézet olyan növényekről gyűjtik, amelyek **fotoszintézise a Calvin-ciklus szerint történik**, azaz a szén-dioxid akceptor egy öt szénatomos molekula, a ribulóz-1,5-difoszfát, mely CO_2 -felvétellel hat szénatomos átmeneti terméket képez, ami két három szénatomos vegyületre, 3-foszfoglicerátra hasad, mely a glükózlebontás intermediere. Ezeknél a növényeknél a szénizotóparány viszonylag szűk intervallumban változik, ezért **ha a mézbe a kukoricából előállított izoszörpöt kevernek, amelynek szénizotóparánya jelentősen eltér a mézétől, a hamisítás kimutatható.**

A kukoricánál és a cukornádnál ugyanis a Calvin-ciklustól eltérő módon nem három szénatomos, hanem négy szénatomos vegyületekben, szerves savakban kötődik meg a szén-dioxid, majd a kloroplasztiszokban a szén-dioxid felszabadul, és újra fixálódik a Rubisco (ribulóz-1,5-biszfoszfát-karboxiláz-oxigenáz) enzim segítségével. A lassabban reagáló és nagyobb molekulatömegű $^{13}\text{CO}_2$ **nagyobb mennyiségben kötődik meg a C3, mint a C4 növényeknél, ami a meghatározás alapja.** Ezért lehetséges kimutatni a mézben a hozzáadott, C4-es növénytől származó izoszörpöt, mert a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ arány sokkal kisebb, mint a C3 növényeknél. **(A referencia-méz $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ aránya 25,4‰, míg ez az arány az izoszörpben csak 9,7‰.)**

Míg a bennünket körülvevő levegőben a szén-dioxid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ aránya 7–9 ‰ között változik, addig a C4-es növényeknél 8–16‰, a C3-as növényeknél pedig 22–32‰ között alakul átlagosan. A kukoricánál ez az arány 8–13, a kukorica-hidrolizátumnál 9,5–12,5, a magas fruktóztartalmú kukoricaszirupnál 9,5–9,8, nádcukornál pedig 1,3–12,2% között változik. Ezek az arányok a C3-as búzánál 23,5–26,5, a répacukornál 24,3–26,4, a rizsből készült szirupnál 26,1–27,4, a magas fruktóztartalmú szirupnál 25,4–25,9‰ között van, a méhek etetésére használt szirupnál pedig 24,2‰.

Az eredeti méznél a szénizotóparány a mézben lévő fehérjében és monoszacharidokban azonos, ha azonban ez jelentősen eltér egymástól, akkor a mézet kukoricából vagy cukornádból készült sziruppal hamisították. A módszer alkalmazását tehát az a felismerés tette lehetővé, hogy **a hamisítatlan mézben a cukorban is és a fehérjében is ugyanaz az izotópok aránya, míg ha izoszörpöt kevernek hozzá, akkor ez az arány megváltozik.**

A meghatározás során első lépésként a fehérjét valamilyen ioncserés eljárással a mézből kivonjuk, majd elégetjük, és tömegspektrométerrel meghatározzuk az így kapott szén-dioxid szénizotóparányait. Ugyanezeket a lépéseket elvégezzük a teljes méz esetében is, majd **a teljes mézre kapott szénizotóparányt hasonlítjuk**

a fehérje szénizotóparányához, és amennyiben ez az aránykülönbség a 0,8 ezreléket meghaladja, akkor a mézet hamisítotttnak kell tekinteni, illetve az arányból, regressziós egyenletek alkalmazásával, a hamisítás mértéke is meghatározható.

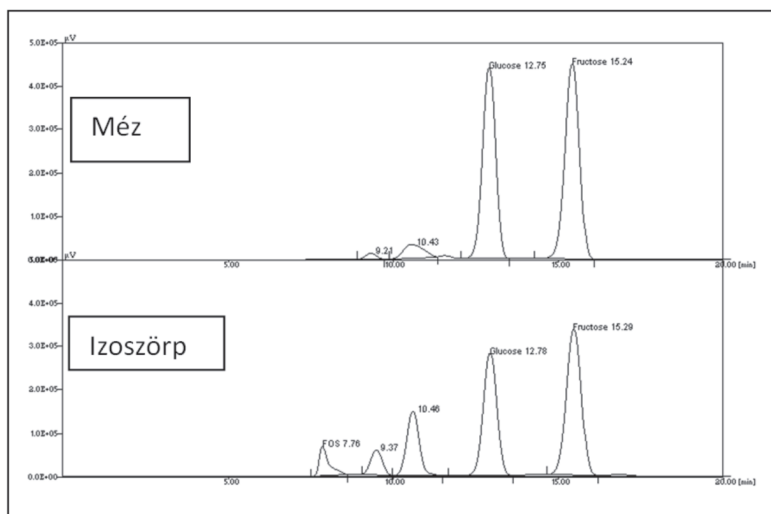
A méz hamisításának kimutatása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával

Ahogy azt korábban már említettük, a mézet legtöbbször nagy fruktóztartalmú kukoricasziruppal hamisítják. A kukoricaszirupot a megfelelő előkészítés után α -amilázzal hidrolizálják 10–15 glükózból álló dextrinekké, majd glükoamilázzal 94–96%-ban átalakítják glükózzá. A glükóz egy részét glükóz-izomerázzal 47–48%-ban fruktózzá alakítják át, majd ioncserés eljárással magas fruktóztartalmú szirupot (90%-os) tudnak előállítani. **Az enzimreakciók paramétereinek megfelelő megválasztásával 42–90% között bármilyen koncentrációban tudnak fruktóztartalmú szirupot képezni.**

Mivel a méz és az izoszörp (kukoricaszirup) szárazanyag-tartalma nagyon hasonló, és az izoszörp lényegesen olcsóbb, mint a méz, adódik a lehetőség a méz hamisítására. **Mivel az izoszörp cukorösszetétele nagyon hasonlít a mézéhez, ezért a hamisítás tényét a hagyományos analitikai módszerekkel nehéz bizonyítani.** A stabil szénizotópos módszer mellett az oligoszacharidok meghatározása mutatkozik hatékonynak a mézhamisítás kimutatására. Az oligoszacharidok meghatározására alkalmazzák a vékonyréteg-kromatográfiát, újabban pedig a folyadékkromatográfiás és a gázkromatográfiás módszerek kezdenek elterjedni a gyakorlatban.

A meghatározások alapja az, hogy **a végtermékben az eredeti keményítő egy százalékáa oligoszacharid formában marad vissza**, ami alapján a hamisítás bizonyítható, hisz **nagyobb tagszámú oligoszacharidok a mézben nem fordulnak elő.** Ilyen anyagok jelenléte **(ujjlenyomat oligoszacharidok)** egyértelmű bizonyítékai a hamisításnak.

A HPLC alkalmas az ilyen oligoszacharidok kimutatására és meghatározására. (A következőkben a Herpai és mtsai. által kidolgozott módszert ismertetjük.) A mézmintából mintegy 1 grammnyi mennyiséget oldottak fel kromatográfiás tisztaságú vízben, majd a megfelelő előkészítés és szűrés után ezt a vizes oldatot használták analízisre. Az analízisek előtt 5 pontból álló kalibrációs görbét vettek fel, mely az 1–100 mg/ml-es koncentrációtartományt fogta át. Az analízis során egy Supelcogel 30 cm hosszú és 7,78 mm belső átmérőjű oszlopot használtak, melyet egy 5 cm-es, 4 mm belső átmérőjű Supelguard oszloppal védtek. Az oszlophőmérséklet 70 °C, az eluens ultra tiszta víz, az áramlási sebesség pedig 0,5 ml/perc volt. A kromatogram az eredeti, hamisítatlan méz és az izoszörp összetételét mutatja.



A tiszta méz és az izoszörp kromatogramja

A 7,76 percnél eluáló csúcs kivételével mindkét kromatogramon ugyanazok a csúcsok láthatók, ez viszont csak az izoszörpben található meg. A csúcs alakja jelzi, hogy nem csak egy molekula eluálódott ebben az időben, hanem **ez a csúcs magasabb tagszámú, hasonló összetételű oligoszacharidok összessége lehet**, melyek az adott kromatográfiás körülmények között a monoszacharidok előtt eluálnak. Az izoszörpnél a második és a harmadik csúcs valószínűleg diszacharidok lehetnek, míg mindkét kromatogramon **az utolsó csúcs a fruktóznak, az utolsó előtti pedig a glükóznak felel meg**.

A glükóz és a fruktóz elválása kiváló, és tökéletes az elválás a többi komponenstől is. Mivel az első csúcs a kromatogramon csak az izoszörpben fordul elő, levonható az a következtetés, hogy az izoszörppel való hamisítás feltárására a leírt nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszer nagy biztonsággal alkalmazható és 1% izoszörp mézhez keverése kimutatható.

5.8. A bor és annak hamisítása

5.8.1. A szőlő, a must és a bor kémiai összetétele

Ahhoz, hogy a borhamisítást fel lehessen deríteni, meg kell ismerni azokat a folyamatokat, melyek során a szőlőből must, a mustból pedig bor keletkezik. **Ki-zárólag a bor összetételének ismeretében lehet olyan módszereket kidolgozni, melyekkel a hamis vagy hamisított borokat ki lehet szűrni** és a hamisítás tényét bizonyítani lehet. A borászati kémia tárgya a szőlő, a must mint alapanyag, a bor mint végtermék összetételének meghatározása és azon bonyolult folyamatok tisztázása, melynek során a gyümölcslemből bor keletkezik.

5.8.1.1. A szőlő érésének biokémiája

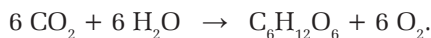
A szőlőbogyó növekedése, érése és túlérése

A szőlő szerveinek növekedése a zsendülésig tart, melynek során a szőlőbogyó változtatni kezdi a színét. A szőlőgyümölcs elraktározza a tartalékait: a cukor felhalmozódik a bogyóban, a vesszők tartalékolják a keményítőt, fásodnak, barnulnak, a levelek lehullanak. A szőlőfürt fejlődési folyamata magában foglalja **a növekedést, a zsendülést, az érést és a túlérés időszakát**. A növekedési periódus elején a fürt csak egy klorofilltartalmú, zöld növényi szerv, melyben a cukor kis mennyiségben már (kb. 20 g/kg) megjelenik, a savtartalom pedig növekszik. A zsendülés során a bogyó tovább növeli térfogatát, puhábbá, rugalmasabbá, átlátszóbbá válik, elveszíti klorofilltartalmát, színeződni kezd, flavon- és antocianin-pigmentek képződnek benne. Ebben az időszakban gyorsan halmozódik a cukor, a savtartalom pedig jelentősen csökken. Az érési időszakban a bogyó összetétele teljesen megváltozik, más szervekből származó anyagok halmozódnak fel benne, és a meglévő alkotórészek is átalakulnak. Speciális érési folyamat a nemesrothadás, mely a *Botrytis cinerea* működésének eredményeképpen jön létre.

A szőlő érése során lejátszódó kémiai-biokémiai folyamatok

Fotoszintézis, anyagvándorlások

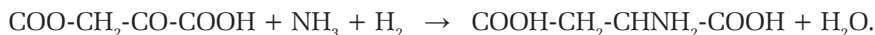
A klorofilltartalmú növények a nap fénysugarainak hatására a levegő szén-dioxid-tartalmát szénhidrátok és szénhidrátokból származó más szerves anyag képzésére használják fel. A lejátszódó reakció:



A szén asszimilációja erősen endoterm, sok energiát igényel, mely a klorofill által elnyelt fényenergia függvénye. A fotoszintézis során először a víz fotolízise

következik be, ami lehetővé teszi a napsugárzás fényenergiájának tartalékolását redukáló hidrogén formájában. Az enzimek működésének hőmérsékletfüggése következtében az asszimiláció 20 °C alatt erősen lecsökken, legmagasabb fokát 35 °C körül éri el.

A fehérjeszintézis az ammóniának a cukorszarmazékokkal végbemenő kondenzációjával magyarázható, melynek során például az oxálecetsavból aszparaginsav keletkezik a következő reakcióegyenlet szerint:



A fotoszintézissel párhuzamosan folyik annak fordított reakciója, a légzés, melynek során lépcsőzetes reakciókban a glükóz energiájának csak egy kis része szabadul fel, így például almasav keletkezik a glükóz oxidációjával:



A többi szerves sav a növényben a Szent-Györgyi-Krebs-ciklus (trikarbonsavciklus, citromsavciklus) szerint képződik. Ennek során a glükózból és a fruktózból trióz-foszfátok, azokból pedig piroszőlősav keletkezik. A piroszőlősav átalakul citromsavvá, az cisz-akonitsavvá, izocitromsavvá és α -keto-glutársavvá, ami tovább alakulhat borostyánkősavvá. A piroszőlősav egy másik útvonalon átalakulhat borkősavvá, az oxálecetsavvá, ami továbbalakul almasavvá, fumar-savvá, és a végtermék a borostyánkősav. Természetesen a ciklusban az oxálecetsavból közvetlenül is keletkezhet citromsav.

A cukor felhalmozódása a bogyóban

A szőlőgyümölcs a növény cukorfelhalmozó szerve. A zöld szőlőbogyók cukortartalma csak 10–20 g/kg, de a zsendülés és az érés alatt a cukortartalom hirtelen 1%-ról akár 20%-ra is emelkedik. A glükóz és fruktóz alakjában felhalmozódott cukor nagy része a törke különböző részeiben raktározott cukroknak a zsendüléskor hirtelen a bogyóba való beáramlásából ered. A zsendülés idején növekszik a fruktóztartalom, a glükóz/fruktóz arány (G/F) viszont gyorsan csökken, és a zsendülés vége felé közeledik az egyhez.

A szerves savak változása a szőlőbogyóban

A szőlőbogyó savtartalmát főként három szerves sav alkotja: a borkősav, az almasav és a citromsav. Igen kis mennyiségben oxálsav, glikolsav, glioxisav és borostyánkősav is előfordul benne. Egyes évjáratokban különböző mennyiségű borkősav és almasav képződik, melyek aránya is különböző. A bogyó növekedésekor, a zsendülés idején az almasav van túlsúlyban, a borkősav : almasav arány egynél kisebb. Az érés folyamán az arányszám növekszik, érett állapotban mindig nagyobb egynél.

A borkősav változása

A borkősavtartalom az érés folyamán $10,5\text{--}13,5\text{ g/dm}^3$ -ről $5,3\text{--}7,5\text{ g/dm}^3$ -re csökken. Az érés kezdetén a borkősavnak kb. 85%-a, végén mintegy 60%-a van szabad állapotban. A borkősav szintézise a szőlőben az alábbi folyamatok szerint megy végbe: Az első folyamat szerint a glükózból glükonsav, abból 5-keto-glükonsav képződik, ami az enol-formán keresztül átalakul 4-keto-glükonsavvá. A másik folyamat szerint a glükóz glükuronsavvá, majd gülonsavvá alakul, ezt követi az 5-keto-gülonsavvá alakulás, mely az enol-formán keresztül átalakul 4-keto-gülonsavvá. A mindkét folyamat során keletkezett 4-keto-gülonsavból közvetlenül vagy a glikolaldehid-, glikolsav-, glioxilsav-folyamat során keletkezik a borkősav.

Az almasav változása

Az almasav koncentrációja erősen csökken az érés során, majd annak vége felé a csökkenés már lassúbb ütemű, és az érés végén néha az almasavtartalom enyhe emelkedése észlelhető. Az almasavtartalom az érés folyamán $22\text{--}26\text{ g/dm}^3$ -ről $3,8\text{--}6,0\text{ g/dm}^3$ -re csökken. Az érés kezdetén az almasavnak kb. 95%-a, a végén 80–92%-a van szabad állapotban.

Az ásványi anyagok beáramlása a bogyóba

A szőlőbogyó hamutartalma állandóan emelkedik a növekedés és az érés egész ideje alatt. A kationokkal párhuzamosan az ásványianion-tartalom (SO_4^{2-} , Cl^- , SiO_3^{2-} és főleg PO_4^{3-}) állandóan emelkedik a szőlőbogyó érése közben.

Fehérjeszintézis

A szőlőbogyó nitrogéntartalma nő az érés alatt, mert az érő szőlő felhalmozza a nitrogént. A fehérjék felépítése a következő általános séma szerint megy végbe:

Ammóniumkation (NH_4^+) \rightarrow aminosavak ($\text{R-CHNH}_2\text{-COOH}$) \rightarrow polipeptidek, peptonok \rightarrow proteinek (fehérjék) \rightarrow proteidek (összetett fehérjék).

Az érés alatt az aminosav-tartalom állandóan növekszik. Az érés előrehaladásával a bogyóhús nitrogéntartalmú anyagai nagyobb molekulatömegű vegyületekből tevődnek össze. Az érett szőlő levének nitrogéntartalma jellemző a szőlőfajtára.

Az érettség meghatározása

Mint érettségi indexet (É.I.) a cukor : sav-arányt használják fel az érettségi állapot meghatározására. Gyakorlati megfigyelés, hogy az érés folyamán a cukor- és a savtartalom ellenkező értelemben változik. Az arány kiszámításához a cukortartalmat is és a savtartalmat is g/dm^3 -ben adják meg.

A szüret időpontjának meghatározása

A megállapítás nagyon gyakran empirikus, megegyeznek az ízlelés útján való becsléssel. Tapasztalat szerint **a szüret optimális időpontja 100 nap a teljes virágzástól vagy 45 nap a zsendülés végétől az érettségig.** A lehető legjobb minőség eléréséhez feltétlenül meg kell várni a teljes érettséget.

A szőlőfürt szerkezete és összetétele

A szőlőfürt a kocsányból és a szőlőbogyóból áll. A kocsány cukrokban szegény, szabadsavtartalma közepes, sok kötött savat tartalmaz, ásványi anyagokkal bőven el van látva, sejtnedvének pH-értéke 4 feletti. Sok polifenolt, cserzőanyagot tartalmaz, de cukortartalma nem haladja meg a 10 g/kg-ot. Szárazanyag-tartalma 23–44% között, hamutartalma 4–6% között van.

A szőlőhéj összetétele

A héj legjellemzőbb anyagai a **sárga és vörös pigmentek, az elsődleges aromaanyagok.** A zöldszőlőben a pigmentekből (klorofill, xantofill, karotinoidok) az érés ideje alatt csak kevés marad meg. A sárga pigmentek (flavonok) és a vörösek (antocianidok) a zsendüléskor kezdenek megjelenni, **maximumukat a teljes érettség idején érik el.** A flavonok a héjban és a bogyóhúsban is megtalálhatók, **az antocianidok csak a héjban vannak.** A legfontosabb flavonalkotórész a kvercitrin, a kvercetinnek egy glükozidja. A szőlő héjában kisebb mennyiségben más flavonszármazékok is vannak.

A szőlőmag összetétele

A szőlőmagok tömege a bogyóéna 3–5%-a. 25–45% vizet, 34–36% szénhidrátot, 10–20% olajat, 4–6% cserzőanyagot, 4–7% N-tartalmú anyagokat, 2–4% ásványi anyagot és egy százalék zsírsavakat tartalmaz. A szőlőmagok gazdagok leukoantocianinokban, melyek a legfontosabb fenolos alkotórészek. Az előző anyagok a borkészítés folyamán részben beoldódnak a borba.

A bogyóhús összetétele

A szőlőbogyó legfontosabb része, mely tömegének 75–80%-át teszi ki. A sejtek belsejét a sejtnedv foglalja el, mely a bogyó legértékesebb része. Nincs különbség a bogyóhús és a szőlőlé, valamint a must összetétele között. A bogyóhús csaknem teljesen tartalmazza a must alkotórészeit.

5.8.1.2. A must kémiai összetétele

A szőlő sajtolásakor nyert **édese, zavaros folyadék** a must. A fehér szőlőfajták mustjának színe zöldessárgától aransárgáig változik, a kék szőlőké enyhén vörhenyes. 100 kg szőlőből 65–80 dm³, átlagban 75 dm³ mustot lehet kisajtolni. A must sűrűsége 1,065 és 1,100 között ingadozik. A must csaknem kizárólag a bogyóhús

sejtnedvéből áll, de szilárd részeket, valamint a héjból és a magból kioldott komponenseket is tartalmaz. A zúzott szőlőből gyenge sajtolással lefolyó must a **szín-must**, míg a nyomással kapott lé a **sajtol must**, az utópréseléssel nyert folyadék pedig az **utósajtolás mustja**. A mustnak 60%-a színmust, 30%-a sajtol must, 10%-a utósajtolású must. A must jellemzésére felhasználható a pH-érték, a hamutartalom, a hamuoldhatóság (hamualkalitás), az extrakttartalom és a redoxpotenciál.

A must alkotórészei

A must alkotórészei a szénhidrátok (monoszacharidok, diszacharidok, keményítő, pentozók, cellulóz, pentozánok, glikogén, pektinanyagok, gumik), a szerves savak (borkősav, almasav, citromsav, egyéb szerves savak), az ásványi alkotórészek, a nitrogéntartalmú anyagok, a polifenolok, a színezékek (zöld és sárga színezékek, vörös színezékek), viaszok, olajok, zsírok, enzimek, vitaminok, aromaanyagok és egyéb alkotórészek.

Szénhidrátok

A **szénhidrátok** túlnyomó részét a redukáló cukrok, a glükóz és a fruktóz teszi ki. A must redukálócukor-tartalma 150–250 g/dm³. A töppedt, aszúsodott, nemes rothadáson átment szőlőből származó must cukortartalma 450–470 g/dm³. Az érett szőlőből sajtol must glükóztartalma a szőlőfajtától, évszaktól, érési állapottól, esetleg a rothadástól függően a fruktózzal azonos. Az érett szőlőből sajtol must fruktóztartalma 70–120 g/dm³. A szacharóz a szőlő leveleiben és zöld részében található, gyors felhasználásra szolgáló cukortartaléka a növénynek, ami a levéltől a gyümölcsig való vándorlása közben invertálódik, és az érett bogyóban már csak nyomokban található (1–3 g/dm³). **A magyar bortörvény jelenleg megengedi a szacharóz mustjavításra való felhasználását.** Az érett bogyó keményítőt nem vagy csak nyomokban tartalmaz. A pentozok 0,3–1,2 g/dm³ mennyiségben a must rendes alkotórészei, nem erjeszthetők, a borba is belekerülnek.

Pektinanyagok, gumik

A szőlőbogyó cellulóz-pektines membránjaiból származó pektinanyagok a tiszta pektin és az egyéb anyagok (gumi, arabánok, pentozánok, poliszacharidok) keverékei. A tiszta pektin a galakturonsav-anhidridekből felépített poligalakturonsav metil-alkohollal részben észterezett származéka. A pektinben a karboxilcsoportok mintegy 75%-a metil-alkohollal észterezett, ami azért jelentős, mert a pektin enzim hatására lebomlik, a *pektin-metilészteráz* az észter kötéseket, a *poligalakturonáz* pedig a glükozidos kötéseket bontja.

Szerves savak

A mustban levő jelentősebb szerves savak a borkősav, az almasav és a citromsav, az egyéb szerves savak mennyisége pedig 3–4%-a az összes szerves savnak. A glikolsav és a glicerinsav mellett igen kevés mennyiségű oxálsav is van

a szőlőben és a mustban. A must savasságán a borkősav- és almasavtartalmat értjük. A must savanyú ízét a szabad és félig kötött savak okozzák (szabad savtartalom). A mustok titrálható savtartalma a fajtától, a termőhelytől, az időjárási viszonyoktól és a szüret időpontjától függően tág határok között változik. Házánkban 4–15 g/dm³.

A szőlőben és a mustban L(+)-borkősav van. Erősen savanyú ízű, 168–170 °C-on olvad. Megtalálható a szőlő minden részében, a szőlő jellegzetes sava, mely a legállandóbb és legerősebb a szőlő szerves savai közül. A mustban jelentős része kötött állapotban van, a szüret időpontjára túlsúlyba kerül az almasavval szemben. A mustok borkősavtartalma 4–8 g/dm³. Sói közül borászati szempontból fontos a borkő (kálium-hidrogén-tartarát) és a kötött, semleges kalciumsója. A borkő vízben kevésbé oldható, 20 °C-on 100 rész víz 0,55 rész borkövet, 100 rész 10,5%-os alkoholos oldat viszont csak 0,30 rész borkövet old, és ennél még nehezebben oldható a borkősavas kalcium. Csekély oldhatósága következtében erjedéskor a képződő alkohol hatására rendszerint kiválik, így csökken az összes borkősav mennyisége.

A szőlőben és a mustban az L(-)-almasav fordul elő, mely kellemesen savanyú ízű, vízben és alkoholban jól oldódó anyag. Savanyú és semleges sókat képez; savanyú sói nehezebben oldódnak, mint a semlegesek. A must almasav tartalma erősen változó, mennyisége 2–7 g/dm³ között ingadozik. A mustban levő almasavnak kb. 20%-a kötött formában fordul elő. A citromsav a szőlőnek és mustnak kis mennyiségben rendes alkotórésze, a must általában 0,1–0,5 g/dm³ citromsavat tartalmaz. A szőlőben és a mustban előforduló egyéb szerves savak a glikolsav, a glicerinsav, a glükonsav, a glükuronsav, a galakturonsav. Csekély mennyiségben előfordul még benne az oxálsav, a fumársav, a 2-hidroxi-glutársav, a malonsav és a nyálkasav (a galakturonsav oxidációs terméke).

Ásványi alkotórészek

Az ásványi anyagok főleg a szőlő szilárd részeiben helyezkednek el, a szőlőlé és a must aránylag szegény ásványi anyagokban. A szőlőnövény ásványi-anyag-felvétele függ az időjárástól, a talajtípustól, a tápanyagellátástól, a fajtától és az érettségi állapottól. A legfontosabb és mennyiségben is legjelentősebb ásványi anyagok a szőlőben a kationok közül a kálium, a magnézium, a kalcium, a nátrium, az anionok közül pedig a karbonát, a foszfát, a szulfát és a klorid. Kis mennyiségben előforduló ásványi anyagok a vas, a bór, a szilícium, a mangán, a cink és a réz, nyomokban fordul elő benne az alumínium, az ólom, a kadmium, a fluor és a szelén.

A káliumnak fontos szerepe van a transzportfolyamatok szabályozásában; a mustokban 1000–2000 mg/dm³ koncentrációban fordul elő. A kalcium mennyisége a mustokban 40–160 mg/dm³, a magnéziumé 50–160 mg/dm³, a nátriumé pedig 10–20 mg/dm³. Az alumínium mennyisége nem tisztított mustokban 30 mg/dm³, az ülepített mustban viszont csak 1–5 mg/dm³. Az ólom 0,01–0,30

mg/dm³ koncentrációban, a bór 5,3–26,1 mg/dm³, a kadmium 3,4–4,3 mg/dm³, a vas pedig, a gyökéren keresztül feljutva, maximum 4–5 mg/dm³ koncentrációban fordul elő a mustban. A fluor koncentrációja a szőlőben 0,05–0,40 mg/dm³ közötti, a kobalté pedig 0,005 mg/dm³ alatti. A réz koncentrációja a mustban 0,2–4,0 mg/kg közötti, mely réztartalmú permetezőszerekből kerülhet bele. A mangán koncentrációja 0,4–2,5 mg/dm³, a molibdéné 2–3 µg/dm³, a szeléné 0,1–1,0 µg/dm³, a cinké pedig 1–3 mg/dm³ a mustban. A must foszfortartalma, P₂O₅-ben kifejezve, 100–200 mg/dm³.

Nitrogéntartalmú anyagok

Az összes nitrogéntartalom 0,2 és 2,0 g/dm³ között ingadozik, ami a must cukormentes extraktjának 20–25%-a. **A must nitrogéntartalmú szerves anyagai az amidovegyületek és az aminosavak.** A mustokban legnagyobb mennyiségben az arginin, a prolin, a treonin, a glutaminsav, a glutamin, a szerin és az alanin fordul elő; ezek alkotják a mustok aminosav-tartalmának kb. 85%-át. Kisebbségi mennyiségben még 10 aminosav található a mustban. A polipeptidek közül a peptonok és albumózok (propeptonok) a fehérjebontás nagy molekulatömegű termékei. A szervesnitrogén-tartalom a talaj nitrátjaiból kerül a bogyóba, ott nem tud felhalmozódni, a szervesnitrogén-tartalmú anyagok szintéziséhez használatos fel; **a fehérjeszintézis a bogyóban zajlik, ami a zsendüléskor indul meg.** A nitrogéntartalom elsősorban a héjban és a magokban koncentrálódik. Az érés végére leáll a fehérjeszintézis, megtörténik a meglévő nitrogén újraelosztása, melynek során a magok nitrogéntartalma csökken, a bogyóhúsé pedig növekszik. A mustban az ún. oldható szőlőfehérje formát lehet kimutatni, ami az albumin és a könnyen oldható globulin típusú növényi fehérjék összessége.

Az **érés során** a szőlőfajtától és az évről függően **az aminosavak száma és koncentrációja növekszik, a szabad aminosavak gyarapodásával párhuzamosan emelkedik a szőlőlében a fehérjék mennyisége is.** Csapadékszegény, igen meleg években az oldható szőlőfehérje mennyisége erősen megnő, kevesebb egyéb nitrogéntartalmú anyag képződik, száraz és meleg években viszont a fehérjeterítésre való hajlam nagyobb. Az alacsony savtartalom elősegíti a fehérjeterítést, mert a pH a szőlőfehérjék izoelektromos pontja felé tolódik, ezért a fehérje kicsapódhat, ami a bor zavarosodását idézheti elő.

Az aminosav-összetétel függ a szőlőfajtától, a tápanyag-ellátottságtól (N-trágyázás!), az érettségi állapottól, a klimatikus viszonyoktól és az egészségi állapottól. Növekvő érettségi foktól függően az aminosavak össz mennyisége nő, és az egyes aminosavak arányai is változnak. Az aminosavak lényeges anyagai az élesztők nitrogénasszimilációjának prekursorai a magasabbrendű alkoholoknak.

Viaszok, olajok, zsírok

A szőlő viaszrétegének összetétele megegyezik a növényi viaszok jellegzetes összetételével. A szőlőmag olajtartalma jelentékeny, a légszáraz magnak 10–20%-a,

amelyből olaj a mustba csak a magok szétzúzásakor kerülhet. A must zsírtartalma nagyon alacsony ($0,01 \text{ g/dm}^3$), de a zsír az elhalt élesztőkből is a borba kerülhet.

Polifenolok, színyanyagok

A must és a bor egyik legérzékenyebb vegyületcsoportja, mert oxidációs hajlamuk miatt barnulással járó és más különböző kiválások okozói lehetnek, de a vörösboroknál feltétlenül szükségesek a borjelleg kialakításához. A polifenolokat négy nagy csoportra lehet osztani: flavonok, antocianinok, fenolsavak és tanninok. Kémiai szerkezetük szerint lehetnek **nem flavonoid-fenolok** (hidroxi-benzoésav és származékai, hidroxi-fahéjsav és származékai), **egyéb nem flavonoid fenolok** (pl. rezveratrol), **flavonoid-fenolok** (katechinek (3-flavanol), **leukoantocianinok** (3,4-flavandiolkok), **antocianinok** (flavonok és flavonolok) és tanninok.

A **nem flavonoid-fenolok** egyszerű fenolok, a bogyóhúsban találhatók észter típusú vegyületek formájában. A szőlő és a bor hat benzoésav- és három fahéjsavszármazékot tartalmaz. **Benzoésav-származékok** a p-hidroxi-benzoésav, a protokatechusav, a vanillinsav, a veratrumsav, a szalicilsav és a gencizinsav, **fahéjsav-származékok** a p-kumársav, a kávésav és a ferulasav. A benzoésav-származékok az antocianinok lebomlásának termékei. A fahéjsavszármazékok szabad állapotban és az antocianinokkal (jellemző alapvázuk a flavilium-váz) alkotott vegyületek formájában találhatók a mustban és a borban.

Az egyéb nem flavonoidok közül **a rezveratrol a legfontosabb** (a stilbének családjába tartozó fenolos vegyület), melynek alapváza az α,β -difenil-etilén, és amely a szőlőbogyóban, elsősorban a héjszerkezetben halmozódik fel. A borok rezveratrol-tartalma főként az alkalmazott szőlőfeldolgozási technológia függvénye. Átlagos koncentrációja $2,24 \text{ mg/dm}^3$, szélső értékek $0,44\text{--}4,71 \text{ mg/dm}^3$. A **rezveratrol** egyrészt fontos szerepet tölt be a szőlő patogén kórokozókkal szembeni védekező mechanizmusban, másrészt **szív- és érrendszeri betegségek elleni védőhatást fejt ki**. A rezveratrol gyógyhatása a vér HDL-koleszterinszintjének normalizálásán alapszik.

A **flavonoid-fenolok** mennyiségére vezethető vissza a bor fenolos anyagainak változása, a barnulási hajlam és egyéb érzékszervi elváltozások, és a keserű, összehúzó íz is a flavonoidkoncentrációtól függ. Legfontosabbak a katechin, a leukoantocianin és az antocianin monomerek, melyek rendszerint glükozidjaik alakjában fordulnak elő. A flavonoidok könnyen oxidálhatók, jó fémmegkötő képességgel rendelkeznek, könnyen reagálnak fehérjékkel és egyéb polimerekkel. **Redukálóképességük az alapváz telítetlenségére, a különböző helyzetű és számú hidroxilcsoportok oxidációs-redukációs mechanizmusára vezethető vissza**. Antioxidáns hatásúak, az oxidációt katalizáló fémionokat kelátkomplex képződése közben megkötik, és jellemző rájuk a kondenzációs reakcióra való hajlam. A vér- és a hajszálerek áteresztőképességének és törékenységének csökkentése miatt a gyógyászatban sikeresen alkalmazzák retina- és vesevérzések gyógyításában.

A **katechinek flavanol-3 alapvázú vegyületek**, melyek két aszimmetriacentrummal rendelkeznek. A szőlőben a (+)-katechin és sztereoizomerje a (–)-epikatechin fordul elő. A bor P-vitamin-aktivitása a katechinkoncentráció növekedésével nő, az öregedéssel csökken. A **leukoantocianidinek** mennyisége borokban 2 g/dm^3 körüli, mint antioxidánsok hatnak, megvédve a borokat az oxigén káros hatásától. A leukoantocianinok szintelen vegyületek, a flavandiol-3,4 alapváz hidroxilezett származékai. Idetartoznak a leukoantocianidin, a leukodelfinidin, a leukomalvidin, a leukopetunidin, a leukopeonidin és a leukopelargonidin. Alkoholos sósavval melegítve antocianin-kloriddá alakulnak, amelyek vörös színű vegyületek. Az antocianinok bioszintézise a leukoantocianinokon keresztül történik. A szintelen leukoantocianinok dehidrogénezés révén flavonszármazékokká alakulnak, ezekből dehidratálás és az ezt követő diszproporcionálódás útján antocianidinek és katechinek jönnek létre, így proantocianinoknak is tekinthetők. A flavonoidok elsősorban a héjban, a kocsányban és a magban találhatók, ahonnan eljutnak a mustba, illetve a borba.

A **tanninok** csoportjába tartozó hidrolizálható tanninok a **fenolkarbonsavak egymással vagy cukrokkal alkotott észterei**. Legismertebbek a galluszsav, a digalluszsav, az ellágsav és a penta-galloil-glükóz, ami 1 molekula glükóz és 5 molekula digalluszsav észtere. A nem hidrolizálható tanninok közé tartoznak a procianidinek, a kondenzált tanninok és a tannin-flavonoidok. Kis kondenzációs fokú és molekulatömegű dimer, trimer, tetramer vegyületek, amelyek vízben jól oldódnak és cserzőanyagokra jellemző tulajdonságot (összehúzó fanyar íz, fehérjék kicsapása) mutatnak. Nagy polimerizációs fokú és molekulatömegű származékaik a flobafének, melyek vízben rosszul, alkoholban, lúgos közegben viszont jól oldódnak. **A tanninok denaturálják a fehérjét, ezért gátolják az enzimek működését.**

A procianidinek a tannin-típusú polifenolok 2–6 egységből álló oligomereik. A szőlő fenolos vegyületei közül a procianidinek prekursorjai, a monomer katechinek határozzák meg döntően a színintenzitást, a színárnyalatot, felelősek az oxidációs hatásra bekövetkező színmélyüléért. Szerepet játszanak a bor tisztaságában, stabilitásában, de okozói lehetnek a kellemetlen fanyar ízérzetnek is. A szőlő fenolos vegyületei baktericid hatással, P-vitamin aktivitással, szív- és érrendszeri betegségek elleni védő hatással rendelkeznek. A vérben gyorsítják a koleszterin kiürülését, stabilizálják az érfalak rugalmasságát, megakadályozzák az érszűkületet, illetve a szívinfarktus kialakulását.

A **fenolos vegyületek** lehetnek nem **tannin fenolok és tannin fenolok**. A nem tannin fenolok egyik csoportját a nem flavonoid (egyszerű) fenolok alkotják, melyek közé tartoznak az oxifahéjsav-származékok (kávéssav, p-kumársav, ferulasav), az oxifahéjsav-észterek (klorogénsav), a dihidroxi-benzoésavak (protokatechusav, vanilinsav), a trihidroxi-benzoésavak (galuszsav, ellágsav) és a galuszsav éterjellegű származékai (sziringasav). A nem tannin fenolok másik csoportját a flavonoid fenolok alkotják, melyek közé tartoznak a katechin-monomerek [(±)-katechin, (±)-epikatechin], a katechin-galluszsav észterek [(+)-gal-

lokatechin, (-)-epigallokatechin], a quercetin, a quercetin-glikozid (rutin), a leukoantocianidin monomerek és az antocianidin monomerek (malvidin, cianidin, delfinidin, peonidin, petunidin, pellargonidin).

A tannin fenolok közé tartoznak a katechin-dimerek, a katechin-trimerek, a katechin-oligomerek, a katechin-polimerek, a leukoantocianidin-polimerek, az antocianidin-polimerek és a procianidinek. A procianidinek a (+)-katechin és a (-)-epikatechin egymással kondenzációs reakciók során képzett oligomer származékai. A polimerizációs fok a dimerektől a hexamerig terjed.

Színanyagok

A színanyagok közé tartoznak az antocianinok, melyek **a kékszőlők és a vörösborok színét dominánsan meghatározzák**. A flavonoidok a héjban és a bogyóhúsban találhatók, az antocianinok pedig a héjban, az epidermisz alatti 3–4 sejtsorban helyezkednek el. Az érjedés során az antocianinok kémiai változtatlanul kerülnek át a mustba, majd a borba. Az antocianinok a 2-fenil-benzo-pirilium-glikozid származékai, ahol az aglikon részt antocianidineknek nevezzük. A flavilium-váz savas közegben ionos szerkezetű, ezért az antocianinok vízben oldódnak, az antocianidinek (aglikonok) viszont nem oldódnak. A cukor rész az oldhatóságot javítja, és megvédi az érzékeny antocianidint a különböző kémiai vagy enzimes behatásoktól. Az antocianinok savas hidrolíziskor vagy enzimes behatásra monoszacharidra és aglikonra bomlanak. A természetben megtalálható antocianinok a delfinidin, a petunidin, a malvidin, a peonidin, a cianidin és a pelargonidin. **Az európai kékszőlők színét a monoglükozidok adják, a nagyobb mennyiségű diglükozid pedig direktermő szőlő jelenlétére utal.** A monomer antocianinok koncentrációja az érlelés során fokozatosan csökken.

Az **antocianinoknál** gyengén savas közegben a piros színű forma reverzibilis egyensúlyban van a színtelen formával, mely egyensúlyi helyzet a pH függvénye. **Színük savas közegben vörös, növekvő pH mellett színtelen, majd kék.** A HSO_3^- ionok kondenzálódnak az antocianinokkal, és a reverzibilis reakció során színtelen vegyület keletkezik, amivel a vörösborok kénezés utáni időszakos elszíntelenedése magyarázható, de az antocianinok elszíntelenedését redukció is okozhatja.

A szőlő zöld és sárga színezékeit a klorofill, a karotin, a xantofill és különböző flavonok, flavonszármazékok képezik. A levelekben és zöld növényi részekben zöld színezék képződik. A kloroplasztok alapanyaga színtelen, a klorofill zöld olajos cseppet tartalmaz. A klorofilltestecskékben sárga (xantofill) és narancsvörös (karotin) festékanyag is van. A klorofill „a” kékeszöld, a klorofill „b” sárgászöld, melyek sav hatására barna színűvé válnak.

A szőlőbogyó érésekor a klorofilltartalom csökken, de csak a teljesérés vagy a túlérés idején tűnik el egészen. **A szőlő két sárga színezéke a karotin és a xantofill.** A karotin izoprénegységekből álló szénhidrogén, amelyben két nem aromás gyűrű metilcsoporttal szubsztituált konjugált kettőskötésű láncot fog közre. Három izomerje az α -, a β - és a γ -karotin. A xantofill (lutein) az oxigéntartalmú

karotinoidok csoportjába tartozik, valójában a karotin oxidja. A flavonok és flavonszármazékok igen elterjedt sárga színezékek, melyek jelen vannak a mustokban és a fehér-, illetve vörösborokban is.

Aromaanyagok

A szőlő és a must aromaanyagai keletkezésük szerint lehetnek **elsődleges vagy primer, prefermentatív, fermentatív vagy erjedési és ún. érlelési aromák**. A szőlő és a must esetében a primer és a prefermentatív aromák a jellemzőek. Az elsődleges vagy primer aromák közé tartoznak az illatos szőlőfajta mustjában mérhető mennyiségben található terpénalkoholok, melyek az „egyszerű” mustokban csak nyomokban fordulnak elő. **Nem illatos szőlőfajták** illó vegyületei hat szénatomos aldehidekből és alkoholokból, kapronsavból, benzilalkoholból, valamint α -butiro-laktonból állnak. A **muskotályos borok** specifikus aromaanyagai az etilcinnamát, a β -jonon, a linalool, a geraniol és a nerol. A **rizlingre és a chardonnay-re** a β -damaszcenon, a fűszeres traminire a cisz-rózsa-oxid, a sauvignonra a 2-sec-butil-3-metoxipirazin, a scheurebe-re pedig a 2-izobutil-3-metoxipirazin és a 4-merkaptó-4-metilpentán-2-on a jellemző aromaanyag. Az **illatos szőlőfajták** terpénvegyületei a monohidroxi-terpénalkoholok, a linalool, az α -terpineol és a nerol. A mustokban $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ a linalool érzékszervi küszöb értéke, ami a muskotályszőlő-fajtákra jellemző. A többi terpénalkohol íz- és illatküszöbe jóval magasabb a linaloolénál. A linaloolból és a nerolból aromavesztést okozva képződnek a különféle oxidált származékok, mint amilyenek az A-furán-linalooloxid, a B-furán-linalooloxid, a C-pirán-linalooloxid, a neroloxid, a cisz rózsaoxid és a transz rózsaoxid, melyek képződése aromavesztést okoz.

A di- és trihidroxi-terpénalkoholok közé tartoznak az 1-diendiol (3,7-dimetil-1,5-oktadien-3,7-diol), a 2-diendiol (3,7-dimetil-1,7-oktadien-3,6-diol), az endiol (3,7-dimetil-1-oktén-3,7-diol) és a triol (3,7-dimetil-1-oktén-3,6,7-triol). Belőlük érzékszervileg aktív vegyületek képződnek. A terpénvegyületek a fajtajelleget adó komponensek közé tartoznak. A **prefermentatív aromák** a szőlő feldolgozása során képződnek. Közéjük tartoznak a C6-aldehidek és alkoholok (transz-2-hexenol, n-hexenal), melyek a „zöld ízt és illatot” okozzák. A héjon áztatás során keletkeznek a C6-, C8-, C10-karbonsavak és etilészterek.

A terpénalkoholok illat szempontjából inaktívak, ízben sokszor keserű érzetet okoznak, indirekt módon azonban hozzájárulnak az aromakarakter fenntartásához. Az **illatos szőlőfajta frissen préselt mustjában** néhány száz $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ szabad linalool, néhány mg/dm^3 1-diendiol, max. $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ C-linalool, $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ körüli D-linalooloxid, 2-diendiol és geraniol, $10\text{--}20 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ körüli A- és B-linalooloxid, α -terpineol, nerol és citronellol, néhány $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ neroloxid és nyomokban rózsaoxid található. A **nemesrothadásra átesett szőlők boraiban** nő a glükonsav és a glicerín koncentrációja, a terpénalkoholok illat szempontjából inaktív diolokká oxidálódnak, emelkedik a „gombaillatot” okozó 1-oktén-3-ol koncentrációja, és nő a karamellízt adó szotolon mennyisége.

Vitaminok és enzimek a szőlőben, a mustban és a borban

A szőlőben a karotin mutatható ki, amely a szőlő egyik sárga festékanyaga. A szőlőlé és a must C-vitamint csak nyomokban vagy egyáltalán nem tartalmaz. Egyéb **vízoldható vitaminokban a szőlő és a must meglehetősen gazdag**, tartalmazza a B-vitaminok számos tagját, H- és PP-vitamint, pantoténsavat, folsavat, mezo-inozitot, kolint és a p-amino-benzoeavat. Az E-vitaminok fontosak mint a mustban levő élesztők és baktériumok növekedési faktorai, jelentősen befolyásolják azok életét és tevékenységét. A must vitamintartalmának szélső értékei az alábbiak: B₁ Tiamin 160–450 µg/dm³, B₂ Riboflavin 3–60 µg/dm³, B₆ Piridoxin 0,16–0,50 mg/dm³, B₁₂ Kobalamin 0 µg/dm³, H Biotin 1,5–4,2 µg/dm³, PP Nikotinsav-amid 0,86–2,60 mg/dm³, Pantoténsav 0,5–1,4 mg/dm³, Mezo-inozit 380–710 mg/dm³, P-amino-benzoesav 15–92 µg/dm³, Folsav (pteroil-glutaminsav) 0,9–1,8 µg/dm³, Kolin 19–39 mg/dm³.

A szőlő és a must enzimei

A szőlő, illetve a must enzimei közül az oxidázok közül említést érdemelnek a **polifenoloxidázok és a fenoloxidázok**. Legfontosabb közülük a tirozináz és a Botrytis által termelt lakkáz. A peroxidázok és katalázok felelősek a fenolok, az aminosavak és az aminosavak oxidációjáért, melyek koncentrációja a kékszőlőkben nagyobb. A szacharáz főleg a levélben található, és az érés kezdetén még a bogyóban is van szacharázaktivitás. Az invertáz aktivitása az érés során csökken. A cukoranyagcserében részt vesz még a hexokináz, a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz és a szacharóz-foszfataz.

A proteázok a nitrogénvegyületek lebontásában játszanak szerepet. A malát-dehidrogenáz az érés folyamatában először a savnövekedésért, majd a -csökkenésért felelős. A glikozidázok a terpének és az antocianidok a glükozidos kötését bontják. Az észterázok közül a pektinészteráz a pektinbontás alapenzime; szerepe a mustok öntisztulásában van. A poligalakturonáz növeli a pektinanyagok lebontását.

Az **egyéb alkotórészek** között említést érdemel a szorbit, mely megtalálható a körte, az alma és más gyümölcsök levében, a szőlőmust és a bor azonban csak csekély mennyiségben (max. 80 mg/dm³) tartalmazza. **Jelentősebb mennyiségű szorbit jelenléte esetén a szőlőmusthoz más gyümölcsök levét keverték.** A mustok 380–710 mg/dm³ inozitot (hexaoxi-hexahidrobenzol) tartalmaznak. A mustok pH-értéke sok tényezőtől függ, 2,80 és 3,70 között váltakozik. A must pH-értéke már jelentős mértékben meghatározza a belőle erjesztett bor pH-értékét.

Ásványi anyagok

A must és a bor hamuja az extrakt elhamvasztása után visszamaradó anyag összessége. A mustok hamutartalma nagyobb, mint a boroké, mert az erjesztés alatt egyes ásványi anyagok oldhatatlan formában kiválnak. A mustok hamutartalma 3 és 5 g/dm³ között ingadozik. A magyar mustok hamutartalma 1,90–7,70

g/dm³, legnagyobb részük 2,5 és 4,0 g/dm³ között van. A must ásványianyag-tartalma 100 g tiszta hamura vonatkozóan 500–700 mg kálium (K₂O), 5,80–160 mg foszforsav (P₂O₅), 40–70 mg kalcium (CaO), 20–40 mg kénessav (SO₃), 30–50 mg magnézium (MgO), 20–40 mg kovasav (SiO₂), 10–25 mg nátrium (Na₂O), 20–60 mg klór (Cl), 4–20 mg vas (Fe₂O₃) és nyomokban bór (BO₃). A mustok hamujában mindig több a kalcium, mint a magnézium. A szőlőlé és a must vastartalma rendszerint nem több néhány mg-nál literenként. A mustok réztartalma 1–15 mg/dm³ között változik.

A mustban és a borban a szerves savak só formájában, a szerves savak részben szabad sav, részben só formájában vannak jelen. **A must és a bor mindig savas, mert a szerves savak egy része szabad állapotban van.** Hamvasztáskor a szerves savak kötött része karbonáttá alakul, ezért a hamu mindig lúgos kémhatású. A hamualkalitás azt mutatja, hogy egy liter must vagy bor hamujának közömbösítéséhez hány cm³ 1 mólos sav szükséges.

Az extrakttartalom

Az extrakttartalom a mustok és borok mindazon anyagainak összessége, amelyek meghatározott fizikai feltételek mellett nem párolognak el, vagyis a **bepárlás után visszamaradó száraz maradék**. A mustból víz, a borból víz, alkohol és más, kis mennyiségű, alacsony és részben magasabb forráspontú anyagok párolognak el. A cukormentes extraktot megkapjuk, ha az összes extraktból levonjuk az 1 g-on felüli cukormennyiséget. A cukor- és savmentes extraktot akkor kapjuk meg, ha a cukormentes extraktból levonjuk a nem illó savak borkősavban kifejezett összegét. A cukormentes extrakt a szerves savak, az ásványi alkotórészek, a nitrogéntartalmú anyagok, a polifenolok és a kolloid anyagok összessége.

Redoxpotenciál, oxidáció, redukció

Egy közeg oxidáló és redukáló nivóját a redoxpotenciállal, az ebből kiszámítható rH-értékkel mérik. A borban a Fe²⁺- és a Cu⁺-ionok autooxidálhatók, oxidált formáik másodlagosan képesek oxidálni az egyéb anyagokat. E rendszerek oxidációs katalizátorokat alkotnak, melyeknek nagy szerepük van a mustok és borok oxidációs reakcióiban. Reverzibilis redoxrendszerek még ezen kívül a borban a kinon–hidrokinon-, a tejsav–piroszőlősav- és az etil-alkohol–acetaldehid-rendszer, és ezen túl még az aszkorbinsav, a dioximaleinsav, a redukton és más hasonló glükózszármazékok is alkotnak redoxrendszert.

A **redoxpotenciál** az a feszültség, amelyet a vizsgálandó oldatba merülő, sima platinaelektrod vesz fel normál hidrogénelektroddal szemben. Redoxrendszer oldatában a feszültség a redukált és oxidált forma arányától, azaz az oldat „oxidáló-redukáló nivójától” függ. Ez a must vagy a bor oxidációs-redukációs feszültsége, redoxpotenciálja. **Mínél oxidáltabb a közeg, annál magasabb a redoxpotenciál**, ezért a must vagy a bor minél jobban levegőztetett, annál magasabb a redoxpotenciál-értéke. Erősen levegőztetett borok redoxpotenciál-értéke eléri a

350–450 mV-ot. Ha a bort levegőtől elzárva tartjuk, redoxpotenciálja fokozatosan a határpotenciál (100–150 mV) csökken.

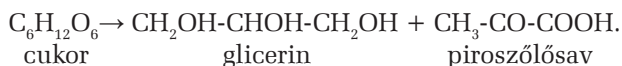
Az rH-értékkel megadott hidrogéngáz-koncentráció az oxidáló-redukáló nívó kifejezése. A 27,6-nál alacsonyabb rH-érték redukáló oldatokat, magasabb értékek oxidáló oldatokat jelentenek. Az rH-skála 0 értéke a legredukálóbbról közegnek, a 42 érték pedig a legoxidáltabb közegnek felel meg. A mustok és borok oxidációs-redukációs nívója összehasonlítására az rH-érték alkalmasabb. Levegőzött mustok rH-értéke 19–24 közötti, a tokaj-hegyaljai mustok rH-értéke 19–22 közötti. Az erjedés megindulásáig az rH-érték lassan, egy-két egységgel, az erjedés alatt egészen 10–12 értékig rohamosan csökken.

5.8.1.3. Az erjedés biokémiája

Borélesztők enzimrendszere soklépcsős biokémiai folyamatok során alakítja át a monoszacharidokat (glükóz és fruktóz) alkohollá. Az alkoholos erjedés során a mustban található erjeszthető cukrok, a glükóz és a fruktóz, és néhány grammos mennyiségben a szacharóz, melyet a szőlőből származó invertázenzim elbont, piroszőlősavvá (piruvát) alakulnak, végső soron az etanol képződik.



A glikolízis során képződött piroszőlősav dekarboxileződik acetaldehiddé, majd alkohollá redukálódik. A cukormolekula egy része az ún. glicerín-piroszőlősavas erjedésen megy át.



A piroszőlősav acetaldehiddé dekarboxileződik, és számos másodlagos termék prekursora lesz. Az alkoholos erjedés során 2 molekula ATP keletkezik.



Az erjedés harminc egymás után bekövetkező reakciót foglal magában. A foszforsav észterek képződése során fruktóz-1,6-difoszfát alakul ki, a trióz-foszfátok képződésekor a hexóz-1-6-difoszfát molekula 2 db három szénatomos molekulára – triózkra – bomlik. A piroszőlősav keletkezésekor a glicerinaldehid-3-foszfát glicerinsav-3-foszfáttá oxidálódik, majd a glicerinsav-3-foszfátból glicerinsav-2-foszfát, ebből pedig piroszőlősav keletkezik. Ha oxigén nincs jelen, a piroszőlősav hidrogénakceptor lehet és közvetlenül D-tejsavvá alakul. Ha a redukciót dekarboxileződés előzi meg, a piroszőlősav acetaldehiddé alakul, amiből alkohol képződik. Ha a piroszőlősav nem tud redukálódni, számos szekunder termék prekursora lesz.

Másodlagos (szekunder) termékek közé tartozik a tejsav, mely, ha eléri a 400 mg/dm³-es erjedési tejsav-koncentrációt, akkor a piroszőlősav nem dekarboxileződik, hanem a tejsav-dehidrogenáz katalizálta reakcióban közvetlenül tejsavvá redukálódik. A borélesztők szinte kizárólag D(–)-tejsavat állítanak elő a cukorból. A biológiai almasavbomlás során a tejsavbaktériumokban az L(–)-almasavból L(+)-tejsav keletkezik. **Glicerin képződik a glicerín-piroszőlősavas erjedéskor,** melynek során a dihidroxi-aceton-foszfát glicerín-3-foszfáttá redukálódik, majd glicerinné alakul. A glicerín képződése sokkal nagyobb intenzitású az erjedés induló fázisában. Az acetaldehid és a glicerinaldehid-3-foszfát egyenlő koncentrációja esetén az acetaldehid redukálódik gyorsabban. **A cukor 3–8%-ban alakul glicerinné** a normális erjedési folyamatban, és az erjedés alatt ecetsav is képződhet. Az erjedés kezdetén ecetsav-növekedést, majd ecetsavcsökkenést lehet megfigyelni. Az ecetsav az acetaldehid diszmutációja révén keletkezik:



A képződés másik módja enzimátikus, melynek során az aldehid-dehidrogenáz az acetaldehidet ecetsavvá oxidálja.

Piroszőlősavból is származtatható több másodlagos termék. A piroszőlősav átlagos koncentrációja a borokban 80 mg/dm³, mely számos másodlagos termék keletkezésének kiindulópontja. A piroszőlősav prekursora az acetil-CoA-nak, az acetoinnak és a diacetilnek, melyek két molekula piroszőlősav kondenzációja-kor keletkeznek. A diacetil (2,3-butándiol) az acetoin oxidációjával keletkezik 0,5–2,5 mg/dm³-es koncentrációban, de az erjedés anaerob fázisában is keletkezhethet az acetoin redukciójával. Maximális koncentrációja borokban 1 g/dm³. **Az almasav piroszőlősavból képződik,** melynek során a piroszőlősav oxálecetsavvá karboxileződik, amit az élesztő almasavvá alakít át. **A borostyánkősav is piroszőlősavból képződik,** melynek során a piroszőlősav almasavvá, az fumársavvá, végül borostyánkősavvá alakul át. A borostyánkősav dekarboxileződése után propionsav keletkezhethet. A borostyánkősav az egyik legjellegzetesebb másodlagos erjedési termék, maximális koncentrációja 1,5 g/dm³. A piroszőlősavból citramálsav (metil-almasav) is képződhet, mely az alkoholos erjedés során képződik az ecetsav és a piroszőlősav kondenzációjával. A borokban 0–300 mg/dm³-es koncentrációban fordul elő.

A nitrogéntartalmú összetevők az alkoholos erjedés során lebomlanak. A must nitrogéntartalmú vegyületei az ammónia, az aminosavak, a polipeptidok és a fehérjék. Az aminosavak jelenléte a szubsztrátumban megkönnyíti az erjedést. Az élesztő képes a szubsztrátból közvetlen aminosav-felvételre, az aminosavakból ammónia szabadul fel, amely könnyen asszimilálható, a dezaminálás és dekarboxileződés során pedig magasabbrendű alkoholok képződnek. Így a valinból 2-metil-1-propanol (izobutil-alkohol), a leucinból 3-metil-1-butanol (inaktív

izoamilalkohol), az izoleucinból pedig 2-metil-1-butanol (aktív izoamilalkohol) keletkezik. A magasabbrendű alkoholok az erjeszhető monoszacharidokból is kialakulhatnak az élesztő tevékenysége révén. A magasabbrendű alkoholok közül a legjelentősebbek az 1-propanol, a 2-metil-1-propanol (izobutil-alkohol), a 3-metil-1-butanol (inaktív izoamilalkohol) és a 2-metil-1-butanol (aktív izoamilalkohol). Az élesztő az alkoholok alábbi prekursor-ketosavait szintetizálja: α -ketovajsav (4C), α -ketoizovaleriánsav (5C), α -ketokapronsav (6C), α -keto- β -metil-valeriánsav (6C).

Az alkoholos erjedés során a mustban található szulfátok redukciójával kénhidrogén (H_2S ; 10–100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$) és szulfit-ionok (SO_3^{2-}) képződnek, és 10–80 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ SO_2 is keletkezhet.

5.8.1.4. A bor kémiai összetétele

A bor különböző szervetlen és szerves anyagok, vegyületek valódi és kolloid, alkoholos-vizes oldata. A **borösszetétel nem állandó**, az erjedés befejeztével az újbor csak kiinduló anyag, amiből a fejlett, állóképes, palackozott bor lesz. Az állandó változások, a sokszor ellentétes irányú folyamatok még a palackozott borban is történnek, melyek igen lassúak, de folyamatosan tartanak. **Az összetétel a bornak nem állandó, változatlan, hanem mindig változó, fejlődő vagy visszafejlődő tulajdonsága.** A bort az alábbi főbb komponensek alkotják: víz, alkoholok, cukrok, szerves savak, fenolos vegyületek, nitrogéntartalmú anyagok, pektinek és poliszacharidok, aromaanyagok, ásványi anyagok és vitaminok.

Alkoholok

A borok **metil-alkohol**-tartalma 20–350 mg/dm^3 , ami a szőlő pektinjeinek erjedés alatti hidrolíziséből ered. A törkölyön erjesztett borok, a vörösborok több metil-alkoholt tartalmaznak, és a direktermő szőlők borában is több a metil-alkohol. 8–10 g metil-alkohol elfogyasztása súlyos látási zavarokat idézhet elő, 30–40 g pedig már halálos lehet, ezért kívánatos, hogy a borok metil-alkohol-tartalma minél kisebb legyen. Magyarországi vizsgálatok alapján a borok metil-alkohol-tartalma 21–293 mg/dm^3 , melyek megoszlása a következő: fehér borokban 21–117, sziller- és vörösborokban 40–160, direktermő borokban 40–293 mg/dm^3 metil-alkohol található.

Az **etil-alkohol** egyértékű alkohol; forráspontja 78,3 °C; sűrűsége 20 °C-on 0,7892 g/cm^3 . Színtelen, jellegzetes ízű, gyenge illatú folyadék; gyúlékony, kékes lánggal ég; vízzel minden arányban elegyedik. A keletkezett alkohol mennyiségét elsősorban a must cukortartalma szabja meg, ezért a nagyobb cukortartalmú mustokat az élesztők nem tudják bizonyos alkoholfokon felül erjeszteni. Az alkohol a bor természetes védő- és tartósítóanyaga, ezért **a nagyobb alkoholtartalmú bor jobban ellenáll** a mikroorganizmusok okozta borbetegségeknek, és **a kiemelkedő évjáratok borai mindig nagy alkoholtartalmúak**, ezért az alkoholtartalom

a bor minőségének egyik igen fontos meghatározója. A borok alkoholtartalma széles határok között, 7–17, szélsőséges esetekben 5–19 v/v% között változik. Az alkohol igen kis része szerves savakkal és aldehidekkel észtereket és acetálokat képez, melyek fontos szerepet játszanak a bukéanyagok kialakulásában.

A két szénatomnál többet tartalmazó, egyértékű alkoholok a **valódi kozmaalkoholok, kozmaolajok**, melyek az alkoholos erjedés melléktermékeként képződnek. Az alkoholos erjedéskor képződő valódi kozmaalkoholok a normál propil-alkohol: $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$, forráspontja 97,2 °C, mely kellemes szagú folyadék, az izopropil-alkohol: $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH}_3$, forráspontja 82 °C, az izobutil-alkohol: $(\text{CH}_3)_2\text{=CH-CH}_2\text{OH}$, forráspontja 107 °C, jellemző illatú folyadék, az aktív amil-alkohol: $\text{C}_2\text{H}_5\text{-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{OH}$, forráspontja 128 °C, optikailag aktív, balra forgató, az izoamil-alkohol: $(\text{CH}_3)_2\text{=CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$, forráspontja 131 °C, jellemző szagú, 40 rész vízben oldható, optikailag inaktív folyadék. A magasabb rendű alkoholok 150–500 mg/dm³-nyi mennyiségben a borok normális alkotórészei. Nagy szerepük van a bor érzékszervi tulajdonságainak, illatanyagainak kialakulásában. Szerves savakkal észtereket, aldehidekkel acetálokat képeznek, melyek kellemes illatú és aromájú vegyületek. A normál propil-alkohol-, az izopropil-alkohol-tartalom néhány mg/dm³, az izobutil-alkohol-tartalom 50–250 mg/dm³, az amil-alkohol-tartalom 100–300 mg/dm³ között változik.

Az alkoholos erjedés másodlagos terméke a **glicerín**. Az első 50 g cukor erjedése alatt keletkezik a bor glicerintartalmának több mint fele; az alkohol után a glicerín a bor legnagyobb mennyiségű alkotórésze, mely **a bor extraktanyagainak jelentős részét képezi**. A glicerín lágytságot, simaságot, bársonyosságot, tességet kölcsönöz a bornak. Mennyisége 6 és 10 g/dm³ között van, és a magyar borok glicerintartalma is 6–10 g/dm³ között változik. A tokaji szamorodni borok 10–14 g/dm³, az aszúborok 7–24 g/dm³ glicerint tartalmaznak. A magyar borok 0,42–1,46 g/dm³ 2,3-buténglikolt tartalmaznak, mely az erjedés alatt az acetoin redukciójával képződik. A borok 200–700 mg/dm³ mezo-inozitot tartalmaznak; a fehérborok mezo-inozit-tartalma 500 mg/dm³, a vörösboré 300 mg/dm³. A mannit jelenléte a borban rendellenes, hibás erjedésre mutat, melynek következtében koncentrációja 1–30 mg/dm³ lehet. A szorbit kis mennyiségben (100 mg/dm³ alatt) a szőlőből ered.

A **bor cukrai közül a legjelentősebbek** a D-glükóz, a D-fruktóz, az L-arabinóz, a D-xilóz és a szacharóz. A borok cukortartalma függ a must cukorfokától, az erjedés körülményeitől, az élesztő fajtájától és a bor tárolásától, kezelésétől. A must cukortartalma elérheti a 350–400 g/dm³-t, melyből a száraz bor legfeljebb néhány g/dm³-t tartalmaz. A természetes édes borok cukortartalma néhány grammtól 80–90 g-ig változik literenként. A hexózok közül a glükóz és fruktóz az édes borok természetes alkotórésze. A mustban a glükóz és fruktóz aránya megközelítőleg 1, édes borokban ez az arány kisebb, megközelítően 0,50. A száraz borok glükóztartalma néhány tized g/dm³, fruktóztartalma 1–2 g/dm³. Az édes borok glükóztartalma néhány grammtól 30 g-ig, fruktóztartalma 60 g-ig változik

literenként. A pentózok, az L-arabinóz, a D-xilóz és a rammóz nem erjeszthetők, a mustból változatlanul kerülnek be a borba, és 2–3 g/dm³-en felül már érezhető az ízük az érzékszervi bírálatnál.

A **szerves savaktól** ered a borok savas tulajdonsága. Az L-borkősav a szőlő és a bor jellegzetes, legfontosabb, legerősebb és legjobban disszociáló sava, a hidrogénionok mennyiségét legjobban növeli, ezért a bor pH-értéke nagymértékben függ a borkősavtartalomtól, melynek maximális értékét a must borkősavtartalma szabja meg. Az erjedéskor a kálium-bitartarát (borkő) kicsapódása folytán mennyisége csökken, ugyanis a keletkező alkohol miatt csökken az oldhatósága. A borkősav mennyisége 1 és 5 g között változhat literenként.

A borostyánkősav mennyisége 0,5 és 1,5 g/dm³ mennyiségben váltakozik az erjedés körülményei szerint. Az L-almasav szerepet játszik a szőlő érettségi állapotának meghatározásában, mert a fiatal borok zöld íze, nyersessége az almasavaknak tulajdonítható. Koncentrációja a zöld szőlőtől az érett borig az érési, alkoholos folyamatokon keresztül állandóan csökken. A borok almasavtartalma 0–8 g/dm³. A citromsav a szőlő és a bor természetes alkotórésze, a Fe³⁺-iont megköti, így meggátolja a vasas töréseket. A tejsav az alkoholos erjedés alatt 1 g/dm³-nyi mennyiségben képződik cukorból, de az erjedés lefolyásától függően koncentrációja elérheti az 5 g/dm³-t is. Az erjedéstől kezdve koncentrációja állandóan nő. Az ecetsav az egészséges mustokban csak nyomokban mutatható ki. Az erjedés folyamán mindig keletkezik ecetsav, mely maximumát akkor éri el, amikor a cukor fele kiejert. Az ecetsav mennyisége 0,6–0,8 g literenként, mely a fejlődés és a tárolás alatt csak növekedhet.

Az **illó savak** közül a hangyasav 50 mg/dm³-ig mindig kimutatható a borban; propionsavat az egészséges borok csak nyomokban tartalmaznak; vajsav pedig 10–20 mg/dm³ mennyiségben fordul elő egészséges borban. Egyéb szerves savak a borokban a glikolsav, a glioxisav, a mezooxálsav, a glicerinsav, a szacharinsav, melyek nyomokban fordulnak elő, nincs borászati jelentőségük. A glükonsav jelenléte bizonyítja, hogy az édes bor nemes rothadású szőlőből származik. A mustok és a borok 120 mg/dm³ glükonsavat tartalmaznak. A glükuronsavat a nemesrothadás vagy rothadás alatt szőlőkben mutatták ki. A borban 0,40–1,25 mg/dm³ mennyiségben található.

A **bor fenolos alkotórészei** közül az antocianinok a szőlőben monomerként, esetenként acilezett formában vannak jelen. Hideg hatására a színyanyagok molekuláris állapotból kolloidális állapotba mennek, majd kicsapódnak. A bor tisztulásakor, tisztításakor a színyanyag egy része adszorbeálódik. Az oxidációs lebomlás során a Cu²⁺ és Fe³⁺-ionok katalizálta folyamatokban keletkező peroxidok alkalmasak a szőlő és a bor antocianinjainak oxidatív lebontására. A kondenzációs mechanizmus valószínűleg kopolimerizáció, de valamely tanninmolekula kapcsolódó közbelépésével lejátszódhat kondenzáció is. A kopolimerizációs és a kationos polimerizációs átalakulások a vörösborok érzékszervi tulajdonságait nagymértékben befolyásolják. A mustban lévő antocianin koncentrációja az

erjedés alatt csökken, és az erjedés végére az antocianinok 40%-a kicsapódik. Az antocianinok valódi oldatból kolloid állapotba mennek át, adszorbeálódnak, majd kicsapódnak a közegből. Az antocianin-koncentráció változik a vörösbork érlelése során is, így féléves tárolás alatt az antocianin-koncentráció átlagosan 25%-kal csökken.

A vörösbork színe objektív meghatározásának lehetőségei

A vörösborknál nagyon fontos minőségi követelmény az elegáns vörös szín, mely több vegyület összhatásának az eredménye. A különböző borkokban az egyes színanyagkomponensek különböző arányban vannak jelen, melyek pH-függőek. A fiatal vörösbork spektrumát 420 nm-en vizsgálva minimumot, 520 nm-en maximumot kapunk. A két hullámhosszon mért abszorbanciaértékek jól jellemzik a vörösbork színerősségét, színárnyalatát (színtónusát), ugyanis 420 nm-en a barna színű polifenolvegyületeket, 520 nm-en pedig a vörös színű antocianinokat mérjük. A két érték összege a vörösbork színerősségét, hányadosa színtónusát, a barna szín arányát határozza meg. A színtónus (T) értékei a következők lehetnek:

T = 0,50–0,80, a vörösbork színárnyalata jó,

T = 0,80–1,00, a bork barnatörésre hajlamos,

T > 1,00, a bork barnatörött.

A színintenzitás (I) értékei a bortípustól függően:

I ≤ 0,70, „rozé” típusú bork,

I ≤ 1,00, „siller” típusú bork,

I = 1,00–2,00, kadarka típus,

I = 2,00–3,00, „pecsenye” vörösbork,

I = 3,00–4,00, „minőségi” vörösbork,

I = 4,00–5,50, „különleges minőségű” vörösbork,

I = 8,00–10,00, gyenge festőbork,

I = 10,00–15,00, közepes festőbork,

I = 15,00–20,00, kiváló festőbork.

A színindex függ a kénessav-koncentrációtól, ugyanis 100 mg/dm³ kénessav-koncentráció-változás 1,00 egység színindexváltozást eredményez. A színtónus is függ a kénessav-koncentrációtól, mert a kénessav az antocianin vegyületeket színteleníti el, ezért a T színtónus növekedni fog. A színindex függ a pH-tól is, mert az antocianin-monomerek érzékenyek a pH változására. Az antocianin-koncentráció csökkenése az érlelés folyamán nem tekinthető színanyagvesztésnek, a monomer-antocianinok egy része ugyanis polimerizálódik, a polimer színanyagok pedig a pH-ra szinte teljesen érzéketlenek. A fél-, egyéves vörösbork színanyagainak 30–40%-át polimer vegyületek alkotják. A színindex és a színtónus időbeli változása sok tényezőtől (tárolás, hőmérséklet, adott bork kémiai összetétele stb.) függ. A bork színindexe az első 6–10 hónapban növekszik, utána csökken, majd színtónusa idővel újból növekszik.

A bor nitrogéntartalmú anyagai

A borban kevesebb a nitrogéntartalmú anyag, mint a szőlőben és a mustban, mert **az erjedés alatt az élesztők a nitrogénvegyületek egy részét felhasználják.** A borok összes nitrogéntartalma $50\text{--}1800\text{ mg/dm}^3$, ez $0,3\text{--}11,3\text{ g/dm}^3$ nitrogénvegyületnek felel meg, ami a bor extrakttartalmának 20–30%-át is kiteheti. A bor nitrogénvegyületei az ammóniumkation (NH_4^+), az amidok, az aminosavak, a biogénaminok, a polipeptidek, a peptonok és a fehérjék (proteinek).

Az ammóniumkation mennyisége a borban néhány mg-tól 150 mg-ig terjed literenként. Az amidok közül a borban az aszparagin és a glutamin fordul elő, melyek koncentrációja az összes nitrogéntartalom 1–2%-a, néhány mg/dm^3 . Az aminosavak a borok összes nitrogéntartalmának 10–40%-át teszik ki. A fehérborok amino-nitrogénje 10–25%-a, a vörösboroké 20–40%-a az összes nitrogénnek. Az aminosavak közül a glicin, a lizin és a cisztin nem változik az erjedés alatt, a többiek mennyisége 75–90%-kal is csökken, az arginin, a hisztidin, a tirozin és a prolin mennyisége viszont növekszik az erjedés alatt.

A **borok biogénamin-koncentrációja** az egyéb élelmiszerekhez képest elenyészően alacsony. A borral bevitt csekély amin felhalmozódik, és az arra érzékenyeknél allergiás tüneteket okozhat. A magyar borokban a hisztamin, a tirozin, a triptamin, a kadaverin, a fenil-etil-amin, a putreszcín és ritkábban a szerotonin fordul elő. A vörösborokban általában magasabb a hisztamin, illetve a tiramin koncentrációja. A magyar borok hisztaminkoncentrációja $0,17\text{--}2,50\text{ mg/dm}^3$ közötti. A kadaverin a fehér borokban $0\text{--}0,30$, a vörös borokban $0\text{--}0,90\text{ mg/dm}^3$ koncentrációban fordul elő. Ezek az értékek az etil-aminra $0\text{--}0,40$ és $0\text{--}0,80$, a hisztaminra $0,17\text{--}1,25$ és $0,59\text{--}2,20$, a metil-aminra $0,21\text{--}1,30$ és $0,30\text{--}0,87$, a β -fenil-etil-aminra 0 és $0\text{--}0,78$, a putreszcínre $0,31\text{--}1,78$ és $0,45\text{--}5,49$, a szerotoninra $0\text{--}0,75$ és $0\text{--}1,07$, a tiraminra $0,01\text{--}1,10$ és $0,30\text{--}0,95$, a triptamin pedig sem a fehér, sem a vörös borokban nem fordul elő.

A polipeptidek és a peptonok nitrogénjének mennyisége 60–90%-a a bor összes nitrogénjének. A fehérjenitrogén a bor összes nitrogéntartalmának csak néhány százaléka. A fehérjenitrogén-tartalom a magyar borokban $7\text{--}120\text{ mg/dm}^3$, amely $44\text{--}750\text{ mg/dm}^3$ fehérjét jelent. A mustok és borok tartalmaznak oldható szőlőfehérjét, mely a bor természetes ászkolása alatt lassan denaturálódik, kiválik, zavarosodást, majd csapadékot okozhat.

Pektinek és poliszacharidok

A musthoz képest a bor pektintartalma kisebb: $0,1\text{--}0,2\text{ g/dm}^3$, melynek nagy része az erjesztés alatt kicsapódik, az erjedés folyamán nagymértékben denaturálódik. A gumik polimerizált cukoranhidridek, melyek kémiaiilag arabánok, az arabinóz anhidridjei, néha pedig galaktánok, melyek a borban $0,1\text{--}3,0\text{ mg/dm}^3$ koncentrációban találhatók, és amelyek mennyisége az ászkolás alatt csökken. A nyálkaanyagok és a mézgák közül jelentősebbek a glükozánok, a glükóz-anhidrid egységek és a dextrán, melyek néhány tized g/dm^3 koncentrációban találhatók a borban.

A bor aromaanyagai

A bor aromakomponensei tartalmazzák a szőlőben, illetve a mustban megtalálható vegyületeket, melyek kiegészülnek az erjedés során képződött aromahordozó vegyületekkel. A borban előforduló íz- és illatanyagok a kémiai csoportosítás szerint az alábbiak: aldehidek és ketonok, acetálok; észterek; laktonok és más oxigéntartalmú heterociklusos vegyületek; terpének és oxigénszármazékaik; nitrogéntartalmú vegyületek; kéntartalmú aromák és polifenolok.

A szőlőben kevés aldehid fordul elő, mert az aldehidek alkohollá redukálódnak, a hexanalok és a hexenalok pedig részt vesznek a fűillat kialakításában. A legnagyobb mennyiségű borban található aldehid az acetaldehid, mely az illatküszöb feletti mennyiségben kellemetlen szagú, az erjedés vége felé viszont koncentrációja a minimálisra csökken. Az acetaldehid a kénessavval reakcióba lép és felhasználódik a procianidinek polimerizációjában. Egyéb, a borban előforduló aldehidek a furfurál, az 5-hidroximetil-3-furánaldehid (furfuro), a fenolaldehidek (a fahéjaldehid és a vanillin), valamint a benzaldehid. **A borban előforduló ketonok** a nor-izoprenoid, a damascenon, az α -ionon és a β -ionon, melyek több szőlőfajta aromaanyagainak kialakításában vesznek részt. A diacetil a vajra emlékeztető, nem kívánatos szagot eredményez, mely borbetegségre utal, és melyet bizonyos tejsavbaktériumok tevékenysége okoz. Az acetálok akkor keletkeznek, amikor egy aldehid reagál két alkohol hidroxilcsoportjával. A borban jelentéktelen koncentrációban fordulnak elő.

A borokban mintegy 160 speciális észtert azonosítottak, amelyek csak alacsony (mg/dm^3 , $\mu\text{g/dm}^3$) koncentrációban vannak jelen. Gyümölcssillatra emlékeztetnek, fontosak a fiatal borok aromájának kialakításában. A monokarbonsav-észterek közül a legfontosabbak **etil-alkoholból és telített karbonsavból képződnek**. Gyümölcsészterek az izoamil-acetát, amely banán-, és a benzil-acetát, amely almaillatot mutat. Az aminosavak etil- és metilészterei mg/dm^3 nagyságrendben fordulnak elő. Az erjedés végén a gyümölcsészterek hidrolizálnak alkohorra és ecetsavra, mely az aromajelleg csökkenésével, laposodásával jár. Az alacsony erjedési hőmérséklet elősegíti a gyümölcsészterek (izoamil-, izobutil- és hexil-acetát) képződését, a magasabb hőmérsékletek a hidrolízisnek kedveznek. Az etil-acetát mennyisége egészséges borokban általában 50 és 100 mg/dm^3 között van. Alacsony (50 mg/dm^3) vagy ez alatti koncentrációban kellemes, 150 mg/dm^3 felett már savanyú, ecet jellegű, kellemetlen szagot ad.

A laktonok és más oxigéntartalmú heterociklusos vegyületek közül a borban a γ -laktonok fordulnak elő, melyek a szőlőből kerülnek a borba, és az erjedés és az érés folyamán is képződhetnek. A terpének és oxigénszármazékaik fontos szerepet játszanak a gyógynövény-ízésítésű és a gyümölcsízésítésű borok illatában. Az egészséges szőlő terpénalkohol-tartalma stabil, de mennyisége csökken a tárolás alatt, így az illat kialakításában a szerepe csekély. A muskotály linalooltól származó, liliomra emlékeztető illata folyamatosan felcserélődik az α -terpineol dohos fenyőre emlékeztető illatával.

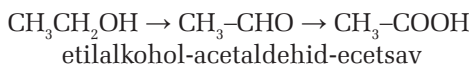
A **nitrogéntartalmú aromák** közül jelentősebbek a pirazinok, melyek gyűrűs nitrogéntartalmú vegyületek. A 2-metoxi-3-izobutil-pirazin a zöldpaprika, a sauvignon blanc és a cabernet sauvignon borok illatának kialakításában vesz részt. A piridinek (2-acetil-tetrahidro piridin) szerepe az „egéríz” kialakítása. Kén-hidrogén és szerves kénvegyületek csak nyomokban fordulnak elő a kész borban. Érzékszervi küszöbértékük néhány pg/dm^3 . A kénhidrogént az elemi kén redukciójával élesztők termelik, amely a szüreti időszakban megtalálható a szőlőn. A merkaptánok szén-hidrogén-lánchoz kapcsolódó szulfidhidril- vagyis SH-csoportokból állnak. A 2-merkaptó-etanol részt vesz az ún. „bakszag” kialakításában, a dimetil-szulfid ($\text{CH}_3\text{-S-CH}_3$) pedig rákra emlékeztető szagot okoz. A tiofének (2-metil-tiofén-3-ol) gyenge hagymaszagot okoznak, a tioészterek (3-etil-merkaptó-propionát) pedig a „rókaíz” adják.

Polifenolok az aromaképzésben

A flavonoid-fenolok a vörösborkok ízét és zamatát alkotják, az antocianinok viszont kevésbé befolyásolják a bor ízét. A legjobban érezhető ízű anyagok a vörösborkokban a katechinek és polimerjeik, a procianidinek és a kondenzált tanninok, melyek a keserű és húzós ízerzetet alkotják. A tirozin kb. 25 mg/dm^3 kritikus mennyiségben hozzájárul a fehérbor keserű ízének kialakításához, a 2-fenil-etanol és a metil-antranilát viszont a borsíz kialakulásáért felelős. Az aceto-vanillinnak enyhe, vaníliára emlékeztető illata van, a 2-fenil-etanol pedig rózsára emlékeztető illatú. Néhány illó fenilszármazék még a 2-fenil-etanol, a vanillin és a cingeron. A szőlő hidroxifahéjsav-észterei illó fenolokká alakulnak. Az eugenol általános fűszeres jelleget ad, a guajakol pedig édeskés, füstre emlékeztető illatú. Fontos fenil-aldehidek a vanillin és a sziringaldehid, amelyeknek vaníliaillatuk van. Az 5-hidroximetil-2-furánaldehid (oximetil-furfurol) a kamillára emlékeztető illatú.

Jellegzetes ízhibát okozó vegyületek borban

A szőlőfajtából eredő aromahibák a szamócaíz, a ribizliíz, a rókaíz, a burgonya- és zöldpaprikaíz, valamint az orvosságíz. Az erjedésből és a további mikrobiológiai folyamatokból eredő ízhibák az ecetíz, a savanyúkáposzta-íz, a „Böckser”-íz, az egéríz, az orvosságíz és a lóistállóíz. A tárolás során, hordós érleléssel vagy szennyeződéssel a borba kerülő, nem kívánatos aromaanyagok okozzák a dugóízt és a kerozinízt. Az ecetízt mikrobiológiai folyamatok, az ecetsav megemelkedett mennyisége okozzák. Ha a borban az illósavak koncentrációja $0,8 \text{ g/dm}^3$ körüli, vagy több mint 90 g/dm^3 etil-acetát van jelen, erős „illóíz” jelentkezik, ha az etil-acetát több mint 200 g/dm^3 , érezhető ecetíz tapasztalható. Az ecetsavképződés mechanizmusa során mindkét alábbi reakciót az alkohol dehidrogenáz enzim katalizálja:



A hosszabb szénláncú aldehidek is oxidálódhatnak savakká.

A szőlőfajtából származó ízhibák közül a szamócaízt a furaneol nevű vegyület okozza, melynek érzékszervi küszöbkonzentrációja $100\text{--}150\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$. A burgonyacsíra- és a zöldpaprikaízt a 2-alkil-3-metoxipirazinok, melyek ízküszöbértéke $2\text{--}150\text{ ng}/\text{dm}^3$, és a 2-propil-3-metoxi-pirazin okozzák, mely a borokban $0,6\text{--}38\text{ ng}/\text{dm}^3$ koncentrációban fordul elő. Az orvosságíz okozói az illékony fenolvegyületek. Ha a vinilfenol-tartalom $>700\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$, akkor nagyon kifejezetten érezhető az orvosságíz. A 4-etil-guajakol lóistállóíz és -szagot okoz. Az egéríz, mely az egérvizeletre emlékeztet, olyan borokban alakul ki, amelyek nem kaptak megfelelő kénezést, savtartalmuk alacsony, pH-juk pedig magas. A bökser (bakszag) kialakulását különböző kéntartalmú vegyületek okozzák.

A tárolás során vagy szennyezésként a borba kerülő ízhibák közé tartozik a petróleumíz, melyet a karotionidok bomlásából származó szén-hidrogének okoznak. A dugóíz és a penészíz a dugók mikrobiális fertőzöttsége és a szabad klór jelenléte együttesen okozza. A korai öregedési íz kiváltó vegyülete a 2-amino-acetofenon, melynek nagyobb mennyiségéért a stresszreakciók felelősek (szárazság, kevesebb tápanyag (főleg nitrogén), a szőlő nagyobb terhelése).

A must ásványianyag-tartalma az erjedés alatt változik, mert egyes anyagokat az élesztő használ fel, mások pedig oldhatatlan sók alakjában kiválnak. A bor normális klorid (Cl^-) tartalma kicsi, $20\text{--}200\text{ mg}/\text{dm}^3$, de a sós, szikes talajon termesztett szőlők borai $1\text{ g}/\text{dm}^3$ kloridot is tartalmazhatnak. A szulfát (SO_4^{2-}) $50\text{--}100\text{ mg}/\text{dm}^3$ -nyi mennyiségben a szőlőből ered. A kénessav egy része kénsavvá oxidálódik, az ászkolás során a borok szulfáttartalma növekszik, de az $1\text{ g}/\text{dm}^3$ -t ritkán haladja meg, általában $200\text{--}500\text{ mg}/\text{dm}^3$. A magyar borokban $200\text{--}540\text{ mg}/\text{dm}^3$ foszfátot (PO_4^{3-}) találtak, melynek tizedrésze szerves kötésben van. A magyar borokban $0\text{--}52\text{ mg}$ szilikát (SiO_3^{2-})-ot mutattak ki. A bromid (Br^-) kis mennyiségben ($0,1\text{--}0,8\text{ mg}/\text{dm}^3$), a fluorid (F^-) pedig $1\text{ mg}/\text{dm}^3$ körüli koncentrációban mutatható ki a borokban. A jodid (I^-) igen kis mennyiségben, néhány tized mg/dm^3 koncentrációban a borok normális alkotórésze. $10\text{--}80\text{ mg}/\text{dm}^3$ „bórsavban” kifejezett borát (BO_4^{3-}) a borok normális alkotórésze. Nitrátot (NO_3^-) a szőlő, a must és a bor csak nyomokban tartalmaz.

A borokban $100\text{--}1800\text{ mg}/\text{dm}^3$ kálium (K^+) van. A káliumtartalom $400\text{--}1600\text{ mg}/\text{dm}^3$ között, a legtöbb esetben $600\text{--}1000\text{ mg}/\text{dm}^3$ között változik. A borban a nátrium (Na^+) mennyisége $10\text{--}200\text{ mg}/\text{dm}^3$ közötti, a magyar borokban $10\text{--}50\text{ mg}/\text{dm}^3$ nátrium található. A borok kalciumtartalmának (Ca^{2+}) határt szab a kalcium-tartarát csekély oldhatósága, ezért a borok kalciumtartalma csak $50\text{--}160\text{ mg}/\text{dm}^3$ között ingadozik. A magnézium (Mg^{2+}) minden borban előforduló sója könnyen oldható, mennyisége a musttól kezdve a kész borig nem változik, a borok magnéziumtartalma $60\text{--}140\text{ mg}/\text{dm}^3$. A szőlőlé eredeti vastartalma (Fe^{2+}) $2\text{--}5\text{ mg}/\text{dm}^3$ között van, a borok vastartalma erősen változó, $5\text{--}15\text{ mg}/\text{dm}^3$ közötti.

Néhány tized mg/dm^3 réz (Cu^{2+}) a szőlőből származik, de ennél lényegesen több kerül a réztartalmú védőszerekből a borba. A mustok réztartalma a $20\text{--}30\text{ mg}/$

dm^3 -t is elérheti. Az újborok réztartalma rendszerint 1 mg/dm^3 alatt van. A borok réztartalma a legtöbb esetben $0,1\text{--}2,0 \text{ mg/dm}^3$. Néhány mg/dm^3 -nyi mennyiségben az alumínium (Al^{3+}) rendes alkotórésze a bornak. Mennyisége 50 mg/dm^3 -nél kevesebb. A mangán (Mn^{2+}) $1\text{--}2 \text{ mg/dm}^3$ koncentrációban található a szőlőben, míg a borok mangántartalma $0,2\text{--}5 \text{ mg/dm}^3$ közötti. A mustok $0,5 \text{ mg/dm}^3$ -nél kisebb mennyiségben tartalmazzák az ólmot (Pb^{2+}), míg a borokban $0,1\text{--}0,4 \text{ mg/dm}^3$ az ólomtartalom, melynek maximális értékét $0,6 \text{ mg/dm}^3$ -ben szabták meg. A cink (Zn^{2+}) normális mennyisége $0,1\text{--}5 \text{ mg/dm}^3$, az arzén (As^{3+}) pedig $0,01 \text{ mg/dm}^3$ koncentrációban van jelen a borban, az 1 mg/dm^3 feletti arzéntartalmú bor fogyasztása már veszélyes!

Vitaminok a borban

A borból teljesen hiányoznak a zsíroldható, az A-, a D-, az E- és a K-vitamin, a vízoldható vitaminok közül pedig **az aszkorbinsav hiányzik a borból**, ugyanis az erjedés alatt a mustban esetleg jelen levő C-vitamin is lebomlik. A többi vízoldható vitamin legnagyobb része kisebb-nagyobb mennyiségben megtalálható a borban, melyek legnagyobb része a szőlőből származik, de az élesztők is szintetizálnak vitaminokat. A bor mint B_1 -vitamin (tiamin) forrás alig jön számításba, mert mennyisége egy liter vörösbortan kevesebb mint $10 \mu\text{g}$, a fehérborban pedig $10 \mu\text{g}$ körüli. (A továbbiakban az első érték a vörösborra, a második a fehérborra vonatkozik.) A vörösborkok jóval több B_2 -vitamin (riboflavin) ($177\text{--}32 \mu\text{g}$) tartalmazznak, mint a mustok, mert a vörösborkokban a színezékek megvédik az elbomlástól. A B_6 -vitaminból (piridoxin) ($0,35\text{--}0,31 \text{ mg}$) 1 liter bor kb. a napi szükséglet tizedrészét biztosítja, míg B_{12} -vitaminból (kobalamin) ($0,06\text{--}0,07 \mu\text{g}$) 1 liter bor a napi szükséglet $6\text{--}7\%$ -át fedezi. A bor jelentős H-vitamin (biotin) ($2,1\text{--}2,0 \mu\text{g}$) forrás, 1 liter bor a napi szükséglet ötödét fedezi. PP-vitaminból (nikotinsav-amid) ($1,36\text{--}0,82 \text{ mg}$) 1 liter bor a napi szükséglet $5\text{--}10\%$ -át, pantoténsavból ($0,98\text{--}0,82 \text{ mg}$) a napi szükségletnek csak tizedét fedezi. A bor mint folsavforrás (pteril-glutaminsav) ($2\text{--}2 \mu\text{g}$) alig jöhet számításba. Összességében elmondható tehát, hogy **a bor nem jelentős vitaminforrás**, kis mennyiségű vitaminjai azonban mégis fontos szerepet játszhatnak hiányos táplálkozáskor. A must kevesebb vitamint tartalmaz, mint a belőle készült bor, mert **az erjedés során a mikroorganizmusok nemcsak fogyasztják, de termelik is a vitaminokat**.

5.8.1.5. A bor fejlődésének kémiai

A hordóban érlelt minőségi borok a tárolási idő alatt mélyreható kémiai és fizikai változásokon mennek keresztül, ezek **a bor érése, jellegének kialakulása, öregedése és elvényülése**. Az érlelés során bekövetkező változások lehetnek fizikai jelenségek (az alkohol és a víz elpárolgása, az élesztősejtek kiüledése) és fizikai-kémiai jelenségek (a borkő és a kalcium-tartarát képződése, illetve kicsapódása, a kolloidok koagulációja és flokkulációja (fehérjék, tanninok és színanyagok),

a polifenol-vegyületek oxidációja, az acetáلكépződés az aldehidek és az alkohol között, illetve a kötött- és illósavak észtereződése alkoholokkal) és biológiai változások [a maradékcukor kierjedése (utóerjedés), biológiai almasavbomlás, az aminosavak alkoholos erjedése, az élesztők önmélesztése (autolízis)].

Oxidációs-redukciós jelenségek a borokban

A borok literenként, 20 °C-on, 5,6–6,0 cm³, 12 °C-on 6,3–6,7 cm³ oxigént oldanak. A borban lévő szén-dioxid nagyobb mennyisége az oxigén oldódását jelentősen lassítja. Az oldott oxigén változó sebességgel kötődik a bor oxidálható anyagaihoz. A vas és a réz katalizálja az oxidációt, együttes jelenlétük erősíti a katalizációs hatást.

A bor tárolása, érése során képződő aromaanyagok

Az érés alatt alakul ki az **oxidatív buké**, melynek során aldehidek és acetálok képződnek. A vörösborok fahordós tárolása során a fából kioldódnak az aromadús fenolvegyületek (vanillin, eugenol, wisky-lakton), melyek jelentősen alakítják a bor ízét és zamatát. A **reduktív buké** kialakulása során az észtertartalom változik, az acetálok mennyisége és a gyümölcsíz, a frissesség csökken, a mono- és dikarbonsav-etil-észterek mennyisége pedig nő. Megjelennek a karotin- és a szénhidrát-bomlástermékek, a terpénvegyületek reakciói során viszont a linalool, a geraniol és a hotrienol mennyisége csökken, és az α -terpineol, valamint a nem illatos hidroxilinalool és nerol-oxid képződik.

5.8.2. Borhamisítás

A **borhamisítás** története akkor kezdődött, amikor az emberek felfedezték a **borelőállítás technológiáját**. A bor **kizárólag szőlőből készül**, azonban olyan esetekben, amikor rossz volt a szőlőtermés, esetleg amikor a filoxéra majd 50%-át kipusztította a szőlőnek, és nagyobb háborúk esetén, amikor megnőtt a **katonaság részéről a borfogyasztási igény, eljött a hamis borok ideje**. A különféle adalékokkal, színezékekkel, cukrokkal, ízanyagokkal kezelt borok vagy a szőlőt egyáltalán nem látott hamisítványok jelentős konkurenciát jelentettek a becsületes borászok számára, és a becstelenség gyors meggazdagodását tették lehetővé.

5.8.2.1. A borhamisítás definíciója

A borhamisítás minden olyan technológia vagy különböző segédanyagok használata, melyet a törvények és a jogszabályok nem engedélyeznek a borkészítés során. A borhamisításról Magyarországon a *Bortörvény* rendelkezik, mely szerint „Az a borászati termék, amelyet a jogszabályokban vagy nem engedett anyagok felhasználásával, vagy a jogszabályokban meg nem engedett módszerrel állítottak elő vagy kezeltek, nem minősül szőlőbornak.” A jogszabály alapján hamisít-

tott bornak minősül, ha a borkészítés során engedélyezett anyagot használnak, de az engedélyezettnél nagyobb mennyiségben, vagy nem engedélyezett anyagot használnak, mint amilyenek a víz, az etilén-glikol, a glicerin, a mesterséges szín- és aromaanyagok. Az előbbire példa, ha szacharózt használnak a must cukorforrásának feljavítására, de az engedélyezettnél nagyobb mennyiségben.

Hamisításnak minősül az is, ha **a bort jogsértő módon átcímkezik, átcsomagolják**, hamis az a bor is, melyet **emberi fogyasztásra alkalmatlan termékekből állítanak elő**, amelynek emberi fogyasztásra való alkalmasságát például szín-, íz- vagy zamatanyagokkal elfedik, amelyet az előállításra törvényesen jogosult engedélye nélkül állítanak elő, amelynek címkéjén félrevezető információkat közölnek, és így gazdasági előny vagy haszonszerzés céljából hoznak forgalomba.

5.8.2.2. A borhamisítás történeti áttekintése

A **borhamisítást a történelem folyamán mindig tiltották**, sőt a törvények komolyan büntették, azonban a hamisítók mindig egy lépéssel a törvény előtt jártak. Krisztus előtt 1800 körül Hammurapi törvényei szigorúan büntették a borhamisítást. Az ókori Görögországban és Rómában nagyon sok adalékanyagokból készült silány bort fogyasztottak a szegényebb népréteg tagjai, sőt esetenként borecet és víz keverékét adták a katonáknak bor gyanánt. Gyakori volt a gyenge, ihatatlan borok feljavítására a gyantával és fűszerekkel történő kezelés, de a jó minőségű borokat is ízesítették például mirtusszal, mézzel, aszalt gyümölcsökkel és rózsaszírommal is.

A középkorban, sőt az újkorban is tovább élt a borhamisítás hagyománya, és az igazi nagy hullám akkor indult el, amikor a 19. század végén **a kémiai és az élelmiszer-tudomány fejlődésével a hamisítók hozzájutottak különböző mérgező vagy nem mérgező színezékekhez**, melyek segítségével fehér borból vagy akár csak vízből vörösborutánzatot tudtak előállítani. A **répa- és nádcukor olcsó előállítását követően** a szőlőtörkölyből állítottak elő alacsony alkoholtartalmú borokat, és gyakran mérgező hatású színezékeket is alkalmaztak a borkészítés folyamán. Ez a hamisítási hullám elérte a világhírű tokaji borokat is, ezzel pedig veszélyeztették az évszázadok alatt kialakult jó hírét. A 20. század elején **vízből, alkoholból, különféle növényi savakból és glicerinből állítottak elő olcsó mesterséges borokat**, melyeket a kereskedők átcímkeztve jó minőségű borként hoztak forgalomba a piacon.

A Monarchiában az első **bortörvényt** 1893-ban hozták, melyet 1908-ban egy még szigorúbb bortörvénnyel erősítettek meg. A szigorítás hatására a bor hamisítása alábbhagyott, ennek ellenére Magyarországon és az egész világon még ma is hamisítják a borokat. Egy-egy leleplezés hatására az egész borvidék elveszítheti jó hírnevét, mint ahogy ez történt hazánkban az Alföldi Borvidékkel, ahol a közelmúltban többszörös mennyiségű bort állítottak elő annál, mint amit a szőlőtermés lehetővé tett volna.

5.8.2.3. A borhamisítás leleplezésére alkalmas korabeli módszerek

A hamis borok leleplezésére **analitikai módszereket dolgoztak ki**, melyek segítségével a borhamisítók lebuktathatók. Hazánkban Wartha Vincze kiváló kémikusnak köszönhető, hogy a borhamisítás előtérbe került, hisz kémikusként ismerte a hamisításra használt színezékeket, és tanácsokat is adott a színezékek hamis borból történő kimutatására. Az ő munkáiból ismerjük, hogy „Az isten adománya, az egi bikavér ma már nem egyéb, mint fukszinnal festett borsav-, gliczerin- és spiritusztrilógia! Nem csoda, hogy az ily módon megtámadott társadalom felbőszül és irtó háborút akar indítani a hamisítók serege ellen, kik piszkos nyereszkeségből nemcsak elég lelkiismeretlenek, hogy embertársaik élete ellen valóságos merényletet követnek el, hanem még elég arcátlanok, hogy a magyar terméknek jó hírnevét a külföld előtt végképpen elrontsák. Valóságos hazaárulás az ilyen cselekedet!” Ehhez nem lehet semmit hozzátenni, legfeljebb búsan megjegyezni, hogy több mint 130 év alatt alig változott valami, a hamisítások ma is léteznek, és a hamisítás elleni küzdelem ma is folyik.

Hogyan hamisították Wartha Vince idejében a vörösborokat? A bor festésére előszeretettel **alkalmazták a különböző kátrányfestékeket, melyek közül a fukszin azért bírt különös jelentőséggel**, mert e festéket a kék, az ibolya, a zöld és a sárga színek előállítására is használják. Azért alkalmazzák a bor festésére, mert a növényi festékeknél (mályva, fagyalfa, gyalogbodza, alkörmös) sokkal kisebb koncentrációban is el lehet vele érni a kívánt hatást. 10–12 mg egy liter fehérborban annak színét vörösre változtatja anélkül, hogy íze és aromája megváltoznék, míg a növényi festékekből hasonló színhatás eléréséhez sokkal több kell, ami már megváltoztathatja a bor zamatát. A fukszin mellett annak savas változatát, **a savas fukszint is használták festésre**, amely vízben jól oldódott és az állás során sem vált ki. Használták még a β -naftol- és a naftilamin-származékokat, az anilinbarnát, a krizotoluidint, a safranint, a grenadint és más anilin festékeket, és főként az anilin ibolyát, mely színének tompítására a karamel sárga színét használták fel.

Wartha Vince módszereket dolgozott ki ezen kátrányfestékek vörösborból történő kimutatására. Az első módszer szerint a bort magnézium-oxiddal túltelítette, majd a kapott elegyet amilalkohol-éter keverékével kirázva, annak színe fukszin jelenlétében megvörösödött. A másik módszer szerint a bort olomecettel kicsapatva a szűrlet vörös színe árulkodott a fukszin jelenlétéről. A legérzékenyebb módszere szerint a forralással besűrített bort ammónium-hidroxidos közegben kezelve, majd a kapott anyagot éterrel kirázva fehér porcelánedénybe töltötte. Az **extraktum a fehér gyapjúsál színét vörössé változtatta**. Ezzel a módszerrel 1 mg fukszint is ki tudott mutatni. A vörös szín sósav vagy ammónia hatására elszíntelenedett.

A korabeli tudósok megemlítették azt is, hogy a borhoz kevert kátrányfestékek általános testi leromlást idéznek elő, és leginkább a vesére gyakorolnak

káros hatást, melynek következtében megnő a vizelet fehérjetartalma. Nem véletlen, hogy ezen ismeretek birtokában Wartha Vincét a hamisítások elleni háború élharcosának kell tekinteni, aki már 130 évvel ezelőtt fellépett a jó minőségű, hamisítástól mentes bor előállítása érdekében. Többek között a hozzá hasonló tudósok munkájának eredményeképpen a borhamisítás néhány évtized alatt minimálisra csökkent Európában.

5.8.2.4. A borhamisítás jelenlegi helyzete

Hamisítják-e a borokat mostanában, illetve milyen trükköket alkalmaznak a borhamisítók, egyáltalán miért hamisítják a borokat? A korábbi évszázadok során alkalmazott hamisítások kora a modern analitikai módszerek térhódításával lejárt. Azért is nehéz hamisítani, **mert a borkészítés során keletkezett melléktermékek újrahasznosítását törvény tiltja**, ezért törköly-, illetve seprőborokat ma már nem lehet előállítani. A bor természetes alkoholtartalma a szőlőcukorból keletkezik, amelynek mennyisége a korai szüretkor, a sok termés esetében, kevesebb a kívánatosnál, ezért ilyenkor törvényesen lehet, a megengedett mértékben, cukorkiegészítést alkalmazni, a megengedettnél nagyobb mennyiség hozzáadása azonban már hamisításnak minősül. Magas alkoholtartalom esetében a bort vizezéssel gyengítik, amely eljárás Magyarországon tilos, az Amerikai Egyesült Államokban azonban a hosszításnak vagy nyújtásnak nevezett vizezés törvényes keretek között zajlik.

A must cukrozása, illetve cukrozása és vizezése elterjedt gyakorlat az egész világon. A borelőállítás során ezen kívül olyan adalék- és segédanyagokat is használnak, mint a fajélesztők, és azok szaporodásához szükséges tápanyagok, sűrítmenyek, színyanyagok, tannin, borkósav, citromsav, gumiarábikum, glicerin, illetve olyan anyagokat, melyekből kén-dioxid szabadul fel. Nem megengedett a vízelvétel, a sűrítés sem, mellyel édesebb és testesebb borokat lehet előállítani.

Előszeretettel alkalmazzák **a bor minőségének javítására a glicerinnel történő kiegészítést** is, amely ugyan természetes alkotórésze a bornak, de ha mennyisége meghaladja a maximálisan engedélyezettet, az már hamisításnak minősül. Amerikában egyébként a glicerinezést sem tiltják a törvények. A természeti környezet megváltozása, a klíma átalakulása is megkövetel bizonyos jogszabályváltozásokat, mert például a megnövekedett átlaghőmérséklet miatt a szőlő szervessavtartalma lényegesen kisebb, mint korábban, ezért míg néhány éve csak borkósavat lehetett a borhoz adni, addig manapság engedélyezett az almasavval és a tejsavval való kiegészítés is. Engedélyezett a tanninnal és az aszkorbinsavval való kiegészítés, sőt cukrozni is lehet a jogszabályban meghatározott mennyiségig. Aki a határértékeket átlépi, az borhamisító.

A magyar borok hamisítására gyakran használták az olcsó, külföldi borokat, melyeket hazaiként drágábban tudtak eladni. Ez a módszer azonban az ellenőrzések miatt visszaszorult. A mennyiséggel is nehéz manipulálni, mert be-

csülni lehet, hogy egy hektárról mennyi szőlőt lehet betakarítani, ami átlagosan 12 tonna. A must a szőlőnek 75–80%-a, azaz 100 kg szőlőből 80 liter mustot, ebből pedig 75 liter bort lehet előállítani. A különböző szőlőfajták ugyan más-ként viselkedhetnek e tekintetben, de nagy különbségek nincsenek, a becslés biztonsággal elvégezhető.

Magyarországon a **Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal felügyeli a borok minősítését és küzd a hamisítás ellen.** Az e célra kialakított laboratóriumban szinte atomi szinten képesek vizsgálni a termékeket a növényi eredet megállapításának érdekében. Bontás nélkül, a palackon keresztül is meg tudnak határozni bizonyos paramétereket, de a klasszikus analitikai módszerek mellett a nagyműszeres analitikát is használják a borok minősítésére. Ezek közé tartozik például a **mágneses magrezonancia analízis, az izotóparány-vizsgálat, a tömegspektrometriás analízis, a gáz- és a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia, az atomabszorpciós spektrofotometria, az induktív csatolású plazmaemisszió és egyéb műszeres vizsgálatok.** Ezekkel a technikákkal a leggyakoribb hamisítási trükkök, mint például a nem szőlőeredetű cukorral végzett túlzott feljavítás, a vízzel való hígítás vagy például a mesterséges édesítőszeres hozzáadása könnyen kimutatható.

Ezen megbízható módszerek alkalmazására azért van szükség, mert a **korserű módszerekkel készült hamisítványokat a fogyasztók többsége nem ismeri fel.** A nagyon olcsó boroktól mindig óvakodni kell, mert nagy a veszélye a hamisításnak. A leggyakoribb trükkök a hamisításra a túl magas kén-dioxid-tartalom, esetleg nehézfémek kerülhetnek bele a hamisítás folyamán, **de belekerülhetnek toxinok (almalével való hamisítás során), etilén-glikol és metanol is.** Illegálisan mesterséges édesítőszereket és színezékeket is adhatnak a borhoz azok tulajdonságainak javítása vagy romlott voltának elfedése miatt.

Esetenként **maga az állam is beszáll a hamisításba.** A múlt század hatvanas éveiben 13-szor annyi Leánykát adtak el a szovjeteknek Magyarországon, mint amennyi termett. A kilencvenes években szalma áztatásával hoztak létre aransárga színű hamisított bort, ami a borhamisítás csúcsát jelentette Magyarországon. Az 1997-ben létrejött összefogás és szervezeti fellépés következtében Magyarországon a borhamisítás visszaszorult, de becslések szerint a forgalomban lévő borok 20%-a még mindig hamisított.

A hamisítás megítélését nehezíti az is, ha **egyes országok nem tudnak megegyezni abban, hogy ki jogosult bizonyos fajtájú borok előállítására.** A tokaji aszút az egész világon hamisítják, ami jelentős anyagi és presztízsveszteséget okoz Magyarországnak. Hamisítják az olaszok (Tocai Friulano), az elzásziak (Tokay d Alsace), és Szlovákiával is vitás ügyeink vannak e tekintetben, mert a trianoni békediktátum kettévágta a tokaji borvidéket, ugyanis a tokaji borvidék három magyar községe Szlovákiához került. Összesen hét szlovák község tart igényt a tokaji megnevezésre, ami miatt Magyarország tiltakozik, mert a magyar aszú különleges minőségét a természeti adottságok, az emberi tényezők és

hagyományok, valamint a speciális technológia adja, ami csak Magyarországon található meg. Az ukrainai Beregszászon nagyüzemi módon folyik a tokaji bor hamisítása, amit elsősorban olasz piacon értékesítenek, és próbálkoztak a tokaji szőlővessző Krímben való telepítésével is.

5.8.2.5. *Néhány példa a bor hamisításának kimutatására nagyműszeres analitikai kémiai technikákkal*

Egy jól felszerelt élelmiszer-vizsgáló laboratóriumban nem okozhat problémát a durva borhamisítások kiszűrése. A magyar bortörvény jelenleg ugyan megengedi a szacharóz mustjavításra való felhasználását, de csak az engedélyezett mértékben. A nagyobb mennyiségű szacharóz a klasszikus módszerekkel, a redukáló és a nem redukáló, valamint az összes cukor mennyisége klasszikus módszerekkel vagy HPLC-vel könnyen meghatározható.

A mustok titrálható savtartalma a fajtától, a termőhelytől, az időjárási viszonyoktól és a szüret időpontjától függően tág határok között változik ugyan, de a szőlőben és a mustban csak L(+)-borkósav és L(-)-almasav fordul elő. Amennyiben a borból D-borkósavat és a D-almasavat lehet kimutatni, mondjuk oszlop előtti származékképzéssel, **HPLC-vel** vagy királis oszlopon származékképzés nélkül, biztosak lehetünk abban, hogy a borhoz nem szőlő eredetű savakat keverték.

Nem ilyen egyszerű a helyzet a tejsav esetében, mert a borélesztők ugyan szinte kizárólag D(-)-tejsavat állítanak elő a cukorból, de a biológiai almasavbomlás során a tejsavbaktériumokban az L(-)-almasavból L(+)-tejsav keletkezik, így végül az enantiomerek analízise ebben az esetben nem alkalmas a borhamisítás kimutatására. A folyadékkromatográfiával meghatározható vegyületek közül említést érdemel még a szorbit, mely megtalálható a körte, az alma és más gyümölcsök levében, a szőlőmust és a bor azonban csak csekély mennyiségben (max. 80 mg/dm³) tartalmazza. **Jelentősebb mennyiségű szorbit jelenléte esetén a szőlőmusthoz más gyümölcsök levét keverték**, a hamisítás egyértelműen kimutatható.

Folyadékkromatográfiával meghatározhatók még a borban lévő összes mono- és diszacharid, a glicerín és az etilén-glikol, a mono-, di- és trikarbonsavak, a polifenolok, a színezékek, a vitaminok és az aromanyagok, **ioncserés oszlopkromatográfiával** pedig a bor kötött és szabad aminosavai, valamint a belőlük képződött biogén aminok. A glükonsav is meghatározható nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, melynek jelenléte bizonyítja, hogy az édes bor nemes rothadású szőlőből származik. A mustok és a borok 120 mg/dm³ glükonsavat tartalmaznak. A glükuronsavat a nemesrothadáson vagy rothadáson átment szőlőkben mutatták ki. A borban 0,40–1,25 mg/dm³ mennyiségben található.

Gázkromatográfiával minden olyan hőstabil vegyület meghatározható, amely illékony, vagy származékképzéssel illékonná tehető. Különösen hatékonyan alkalmazható borok analízisére a **kapilláris gázkromatográfiával kapcsolt tömeg-**

spektrometria (GC-MS), amellyel eddig hozzávetőlegesen **350 illóanyagot tudtak a különböző borokból kimutatni**. Ezek közé tartoznak az alkoholok, a ketonok, az aldehidek, az illó és nem illó zsírsavak, az észterek, a zsírsavszármazékok, a viaszok és a gyanták komponensei, és az erjedés, valamint a bor érése során keletkező számos zamatanyag. Meghatározhatók a különféle borfajták specifikus aromaanyagai, melyek segítségével azt is ki lehet mutatni, hogy milyen borokat házasítottak (Cuvée, küvé), illetve milyen bort milyen másikkal hamisítottak.

Az atomabszorpciós spektrofotométerrel és az induktív csatolású plazma-emissziós fotometriával a makro- és mikroelemek, de még a $\mu\text{g/liternél}$ kisebb koncentrációk is könnyedén kimutathatók és meghatározhatók.

Összegezve az elmondottakat, ha rendelkezésünkre állnak az előbbi nagyműszeres technikák, szinte nincs olyan komponens a borokban, amelyeket ne lehetne kimutatni és azonosítani. Ha ismerjük a komponensek mennyiségét és arányát, a különféle borfajtákra jellemző standardokat, nincs az a ravasz borhamisító, akit ne lehetne ezek segítségével leleplezni. A módszerek részletes leírása a könyv általános, analitikai módszereket ismertető fejezetében megtalálható.

5.9. A pálinka és annak hamisítása

5.9.1. A pálinka definíciója

A 10/2008-as EK-rendelet szerint a gyümölcspárlat olyan szeszes ital, amelyet kizárólag húsos, magozott vagy mag nélküli gyümölcsök mustjának, valamint bogyótermésének vagy zöltségek alkoholos erjesztésével és bepárlásával nyernek, amelyet 86%-osnál kisebb alkoholtartalomra párolnak be úgy, hogy a gyümölcsök és termékek aromája megmarad a párlatban, amelynek illóanyag-tartalma legalább 200 g/hektoliter abszolút alkoholra vonatkoztatva. Csonthéjas gyümölcsből készült párlat esetén a hidrogénianid-tartalom nem haladja meg a 7 g/hektolitert abszolút alkoholra vonatkoztatva, a gyümölcspárlatok maximális metilalkohol-tartalma 1000 g/hl abszolút etil-alkoholra vonatkoztatva, de egyes gyümölcsök esetében ez 1200 vagy 1350 g/hl is lehet, a gyümölcspárlat minimális alkoholtartalma 37,5%, és a gyümölcspárlat nem ízesített. Az Európai Unión belül pálinkának csak a Magyarország területén termelt, erjesztett és kifőzött párlatot lehet nevezni, bár némi vitáink vannak a szomszédos országokkal e tekintetben.

5.9.2. A pálinka története

Az emberek már évezredek óta tudják, hogy az erjedt gyümölcsök vagy a belőlük készült lé bódító hatással bír, amit élvezetszerzés céljából ki is használtak. A legelső írásos emlékek a sörkésztésről a Kr. e. 1700-as évekből származnak, amikor Hamurabi törvényei már rendelkeztek a sör áráról és minőségéről. Hamarosan

rájöttek arra is, hogy szőlőből hogyan kell bort készíteni, de a tömény szeszes italok előállítása még majd három évezredet váratott magára. A pálinka készítése és fogyasztása nagy hagyományokkal rendelkezik Magyarországon, ezért ezen ital kapcsán mutatjuk be azt, hogy a jó minőségű gyümölcsből hogyan lesz olyan eredetvédett élvezeti cikk, amelynek nevét Magyarországgal és a magyarokkal kötik össze. Ebben a fejezetben azokat a technológiai folyamatokat ismertetjük, melyek során az alapanyagból a tisztításon, az előkészítésen, a cefrézésen, az erjesztésen, az elpárologatáson és a kondenzáláson keresztül eljutunk a kiváló minőségű pálinkához.

Az első lepárlókat valószínűleg Egyiptomban üzemeltették, akkor azonban még nem szeszes italokat, hanem különböző illóolajakat és párlatokat állítottak elő. Az arabok jöttek rá arra, hogy hasonló eljárással a szőlő- és pálmaborból égető ízű, nagy élvezeti értékű párlat állítható elő. Szibériában az őslakosok erjesztett tejből, kumiszból is készítettek párlatokat, majd a Kr. u. 10–12. században Ázsiában és Európa nyugati felében is általánossá vált a szeszpárlatok előállítása. Az első fogyasztható szeszes italokat a 11. század közepén készíthették, az első gabonapárlat előállításának feltételezett ideje a 13. század, míg a gyümölcspárlatok előállítására még pár száz évet várni kellett.

E korból származik az égetett szesz elnevezés is, amely arra utal, hogy a párlat frakcióit még nem tudták tökéletesen szétválasztani egymástól, így a legtöbb szeszes italnak égett, kozmás jellege lehetett. A 16. században a kolostorokban gyógynövényes alkoholos elixíreket állítottak elő, a 17. században pedig már közismertek a gyógyászati célra előállított ízesített, illatosított párlatok, melyek előállítása során mentát, fahéjat, szegfűszeget, ánizst és szerecsendiót használtak ízesítőként, amelyekre rendkívüli módon megnőtt a kereslet. Általánossá vált a törkölypálinka főzése, és a borpárlaton túl előállítják a gabonaszeszből készített édes likőröket is.

A szeszfőzés technológiája az 1800-as évek elején még kiforratlan volt: nyílt tűz fölött kis üstökben végezték. Forradalmi változást a gőzkazánok elterjedése hozott, ami lehetővé tette az üstök és a gőzkazánok egybeépítését, a modern lepárló technika létrehozását, ami egyeduralmuként válva a házi pálinkafőzést szesziparrá alakította át.

Kiváló minőségű, hosszú eltarthatósági idejű pálinka csak kiváló alapanyagokból, megfelelő technológiával készíthető, mely feltételezi, hogy az előállítás minden fázisában a legtökéletesebb eszközöket és módszereket alkalmazzák. Mind a felhasznált alapanyagokat, mind a technológiákat illetően az elmúlt évszázadban olyan fejlődés játszódtott le a pálinka-előállítás területén, hogy manapság gondos munkával mind a kisüzemekben, mind ipari méretben kiváló minőségű terméket lehet előállítani. A folyamat minden résztvevője belátta, hogy az előállítás során fellépő bármely hibás lépés az egész technológia egyébként kiváló munkáját elrontja, tehát a termékpálya bármely pontján elkövetett hiba a végtermék minőségét jelentősen befolyásolhatja.

5.9.3. A pálinkafajták csoportosítása

A pálinkafajtákat többféle módon lehet csoportosítani. Az alapanyag szerint ismertek nyers növényi alapanyagból készült gyümölcsalapú szeszes italok (gyümölcspárlatok, körtéből pl. körtepálinka, vagy barackból barackpálinka), gabonából készült szeszes italok (gabonapárlatok, pl. whiskey), vagy egyéb növényi anyagokból készült szeszes italok (pl. agavéből készült tequila, vagy burgonyából, kukoricából előállított tiszta szeszéből készült szeszes italok). Borászati melléktermékekből, borból borpárlatot, seprőből és törkölyből pedig pálinkát lehet előállítani. Végül ott vannak még a tiszta szeszéből készült pálinkák, melyet aromaanyagokkal állítanak elő. A pálinka aromájának fokozására, különleges ízek és aromák kialakítására gyümölcsöt, aszalt gyümölcsöt, fűszereket, gyógynövényeket és aromákat is használnak aromaanyagként.

A gyártás technológiája szerint a szeszes italok lehetnek erjesztéssel és lepárlással készült termékek, melyek az alapanyag erjesztésével, majd lepárlásával készülnek, mint amilyenek pl. a barackpálinka, a calvados vagy a tequila. Készülhetnek hidegúti technológiával is, melynek során tömény etil-alkoholból hígítással, ízesítéssel készítenek alkoholos italokat, végül a kombinált technológiával készülnek az olyan termékek, amelyeket tömény etil-alkoholnak aromás növényekkel való keverésével állítanak elő, melyet egy végső desztillálás követ. Ezen utóbbi technológiával készül pl. a gin.

A törvény szerint azokat az alkoholtartalmú, cefréből lepárlással előállított termékeket nevezzük pálinkának, melyeket gyümölcscefréből állítanak elő. A gabonából készített párlatokat csak szeszes ital néven lehet forgalomba hozni, és napjainkban a szeszipar készít etil-alkoholból esszenciák hozzáadásával kommersz vagy hideg úton készített nagy alkoholtartalmú italokat is, melyek lényegesen alacsonyabb áron kerülnek forgalomba, mint a gyümölcspálinkák. Megkülönböztetést jelenthet még a szeszes italok között a földrajzi eredetre való utalás, erre példa a konyak (cognac) és a brandy elnevezés. Sok brandy van forgalomban a világpiaccon, konyaknak azonban csak a Franciaország egy meghatározott helyén termesztett szőlőből, annak borából megfelelő technológiával készült termék nevezhető.

5.9.4. A pálinka nyersanyagai, minőségi követelmények

A pálinkakészítés nyersanyagai a különféle, cukortartalmú vad- és termesztett gyümölcsök, illetve a borászat melléktermékei. A gyümölcspálinkák alapanyagai a termesztett és vadon termő gyümölcsök, melyekből jelentős mennyiség áll rendelkezésre a pálinkakészítéshez. Gyümölcspálinka-készítéshez csak az olyan gyümölcsök alkalmasak, melyek jelentős cukortartalommal rendelkeznek, hisz cukorból lesz az alkohol. A jó cefre magas alkoholtartalmú, s az alkohol ahhoz is szükséges, hogy számos íz- és illatanyag kioldhatóvá váljon, melyek alacsony alkoholtartalom mellett bennmaradnának a cefrében. A magas alkoholkoncent-

ráció ezen túl elősegíti a minőségi illatkaraktert adó észterek, aldehidek és acetátok képződését is. Rossz minőségű, rothadt, érésben visszamaradt vagy éretlen, csekély cukortartalmú gyümölcsből jó minőségű pálinka nem állítható elő. Csekély cukortartalom esetén a cefrét a törvény által meghatározott mértékig lehet cukrozni a nagyobb alkoholkitermelés miatt. Fontos, hogy a cefrealapanyag gyümölcs ne tartalmazzon erjedést gátló idegen anyagokat, talajmaradványokat, mert ezek károsan befolyásolják az alkohol mennyiségét, ezért a gyümölcsöt a feldolgozás előtt meg kell mosni. Szennyezett, éretlen vagy túlérlett gyümölcsből nem lehet jó minőségű pálinkát előállítani.

A különféle, pálinkakészítésre is használt gyümölcsök cukortartalma a következő: alma 6–12%, körte 8–12%, birs 10–11%, cseresznye 12–18%, meggy 8–15%, kajszibarack 8–12%, szilva 10–20% és őszibarack 8–12%. A cukortartalom egyértelműen megszabja a szeszhozamot. 100 kg gyümölcsből a cseresznye esetében 7,07 liter, körtéből 5,26 liter, szilvából 4,75 liter, kajszibarackból 4,72 liter, vegyes gyümölcsből 4,55 liter, almából 4,08 liter, meggyből 4,03 liter, vadon termő gyümölcsökből 3,84 liter, őszibarackból pedig 3,23 liter tiszta szeszt lehet előállítani. A 20. század első felében még az eperfa termését is használták pálinkakészítésre, azonban betegségei miatt kivágták őket, újakat pedig nem telepítettek. A belőle készült pálinka zamattal nem rendelkező, édeskés, semleges ízű ital, melyet a fogyasztók nemigen kedveltek.

A vadon termő boróka terméséből is kiváló pálinka készíthető. A borókamagok íze édeskés, illatuk a terpentínre emlékeztető. A gin típusú italok ízesítője, amit a termés alkoholos erjedést követő lepárlásával készítenek. Magyarországon is igen kedvelt és exportált ital volt, mert 20–25%-os cukortartalma jó szeszkihozatalt eredményezett. A termőhelyi adottságoktól függően az olajokban gazdagok kesernyésebbek, a kevesebb olajat tartalmazók zamatosabbak. A borókából készült pálinkát Erdélyben fenyőpálinkának vagy fenyővíznek hívják, a Szlovákiában termett borókából pedig a borovicskát állítják elő. A gin ízesítésére a boróka gabonapálinka kivonatát használják. Az előzőekben felsorolt gyümölcsökon túl megemlítendő még a kék, illetve vörös áfonya, a berkenye, a bodza, a málna, a szeder és a szedermálna mint pálinka-alapanyag.

5.9.5. A pálinkakészítés technológiája

5.9.5.1. Az alapanyagok átvétele és minősítése

A pálinkakészítés célja kellemes zamatú nyersanyagokból, gyümölcsökből olyan szeszes ital készítése, mely a nyersanyagra jellemző összes kellemes íz- és illatanyagot tartalmazza, és nincs zamatot rontó mellékíze. Fő alkotórészek a vízen és alkoholon kívül a zamathordozók. Minden olyan gyümölcs felhasználható pálinkakészítésre, amelynek jelentős erjeszthető cukortartalma van, s amelyek jellegzetes, erős aromájúak, érettek, egészségesek, épek, penésztől,

rothadástól mentesek. Előnyös, ha nagy a hús/mag és alacsony a szár/gyümölcs arány és a pektintartalom. A gyümölcs átvételekor ellenőrizni kell az érettségi fokot, a tisztaságot, a penészszenestességet, a héjsérülést, a törődöttséget és a fajtára jellemző illatot és ízt. A gyümölcs lehet éretlen, szedésre érett, túlrett, fonnyadt és folyós. Csak a kellően érett gyümölcs alkalmas erjesztésre, mert ebben van a megfelelő mennyiségű cukor és aromaanyag. Az éretlen gyümölcsben ezek kis koncentrációban vannak jelen, a túlrett gyümölcs pedig a pálinka aromáját rontó anyagokat is tartalmazhat.

A gyümölcs lehetőleg ne tartalmazzon idegen anyagokat, elsősorban földet, vagy ha igen, azt mosással el kell távolítani. Penészes, rothadt gyümölcsből nem lehet jó minőségű pálinkát készíteni. Almából megengedett a rothadt részek kivágása. A gyümölcs legyen lehetőleg törődés- és sérülésmentes, mert minden felületi sérülés a rothadásnak és a penészesedésnek kedvez. A jégveréstől sérült gyümölcs akkor dolgozható fel, ha a sérülés két-három napnál nem régebbi. Az íz és illat vizsgálatából meg lehet állapítani a fajtajellemzőket. A gyümölcs legyen a fajtára jellemző tiszta aromájú, mely függ az érettségi foktól is. Kézi refraktométerrel meg lehet határozni a gyümölcs összes extrakttartalmát, amiből táblázatok segítségével ki lehet számítani a cukortartalmat.

A refrakcióérték alapján, tapasztalati úton meg lehet határozni a várható szesz tartalmát. Az e célra alkalmazott szorzószámok a kajszibarack esetében 0,38, a szilvánál 0,36, a cseresznyénél 0,33, a meggyénél 0,30, az almánál 0,43, a vegyes gyümölcsnél pedig 0,36. Az így kiszámított szeszhozam csak ideális körülmények között érhető el, üzemi körülmények között ennél 10–20%-kal kevesebbel kell számolni. A ballasztanyagok (mag, rost, héj, szár) is csökkenhetik az alkoholtartalmat, közülük egyesek a pálinka aromáját kedvezően, mások hátrányosan befolyásolják. A számítások mellett célszerű próbaerjesztést is végezni, mely háromnapos erjedést követő desztilláció után egészen pontos adatokat ad az alkoholtartalomról.

5.9.5.2. A cefrézés

A cefrézés során a gyümölcsöt a szennyező, szükségtelen részekről megtisztítjuk, melynek során olyan állapotba kerül, ami biztonságos és gazdaságos szeszelőálítást tesz lehetővé. Az átválogatás során az idegen, a szükségtelen vagy káros anyagokat eltávolítjuk, mert ezek kellemetlen, fanyar ízanyagot tartalmazhatnak, amelyek rontják a kész pálinka minőségét. Nagyon veszélyes a földszennyezés, mert a pálinka rossz ízt és zamatot kaphat tőle, sőt a talajbaktériumok az akrolein képződését is elősegíthetik. A dohos, penészes, romlásnak indult gyümölcsöket el kell távolítani, mert a rajtuk lévő gombák, penészek, vadélesztők kedvezőtlen, vajsavas, tejsavas, ecetsavas, acetonos erjedési folyamatokat indíthatnak meg, melyek során akroleinen kívül sok egyéb káros anyag is képződhet. Az éretlen gyümölcsöt sem szabad feldolgozni, mert kis cukortartalma miatt alacsony lesz a

szeszkihozatal, másrészt túl sok savat tartalmaz, ami a pálinka aromáját előnytelenül befolyásolva savanyú, fanyar ízhatást okoz.

Az előzőek miatt a talajbaktériumokkal, vadélesztőkkel szennyezett gyümölcsöket meg kell mosni, mely során eltávoznak a permetezőszer-maradványok is, melyek ugyancsak gátolják az élesztők tevékenységét és nem kívánatos erjedési folyamatokat segíthetnek elő. A legveszélyesebb így keletkező mérgező anyag az akrolein, ami a talaj baktériumainak hatására keletkezik az erjedés melléktermékéből, a glicerinből. Az akrolein színtelen, köhögésre és a környezetre ingerlő szagú, a nyálkahártyát erősen irritáló folyadék.

A gyümölcsök mosása történhet a rekeszek vízbemártásával, vízpermetezéssel, gyümölcsmosó kádakban, alkalmazhatnak forgódobos alma- vagy burgonyamosókat, kefés és ventillációs mosógépet. A magozásra a csonthéjas gyümölcsök esetében van szükség, mert a magbelsőben lévő amigdalín, ha nagyobb mennyiségben kerül a cefrébe, akkor a pálinka íze kellemetlen, keserű lesz, szinte élvezhetetlenné válik. Ezt a keserű ízt az okozza, hogy az amigdalín az erjedés során enzimatikusan bomlik benzaldehidre és hidrogén-cianidra, mely mindkettő keserű ízhatású vegyület, sőt az utóbbi még erősen mérgező is. A ciánhidrogén a pálinkában maximum 40 mg/kg koncentrációban fordulhat elő, az ennél nagyobb mennyiséget tartalmazó pálinka nem hozható kereskedelmi forgalomba. A barackfélék magját akkor is el kell távolítani, ha nem törik össze, mert a mérgező anyagok a csonthéjon keresztül is átdiffundálnak. A barackpálinka magzatának kialakítása érdekében édes magvú kajsziabarack magját összetörve, száz literenként 30–50 dekagrammot visszajuttatnak a cefrébe.

Cseresznye- és meggycefrekészítéskor nem kell magozni, mert a mag egészben marad és amigdalintartalma nem okoz egészségügyi kockázatot, viszont fontos a szár eltávolítása, mert nagyobb mennyisége kesernyés, fanyar jelleget ad a pálinkának. A magozás történhet kézzel, passzírozással, verőléces vagy kiszűrőtűskés magozógépek alkalmazásával. Az aprítás és zúzás célja, hogy a sejtek szétrocsolásával, a gyümölcslé feltárásával gyorsabban induljon be az erjedés. Az aprításhoz hengeres gyümölcshúzó, kalapácsos darálót, fésűs vagy fogas húzó, gyümölcsszeletelő gépet, fűrészes almatépőt vagy lyuktárcsás gépet használnak. Ha nagyon finom pálinkát akarunk előállítani, akkor préseléssel a húzott gyümölcsből cukor- és aromatartalmú levet préselünk, ezt erjesztjük gyümölcsborrá, majd ebből készítjük desztillálással a pálinkát. Az almale erjesztése során az almalé desztillálásával nyerik a híres Calvados almapálinkát.

A pálinkacefre erjesztése optimálisan kb. 18 °C-on játszódik le, ezért a technológiai beavatkozások következtében felmelegedett cefrét hűteni kell. Amennyiben a gyümölcs érése szempontjából kedvezőtlenek voltak a viszonyok, és a gyümölcs kevés olyan anyagot tartalmaz, mely aminosavai révén segítené az élesztők szaporodását, ásványi anyagokat, főként foszfort és nitrogént és más egyéb, a gombák szaporodására jó hatással való anyagokat adnak a cefréhez. Az erjedés optimális lefolyásához megfelelő savkoncentrációra van szükség, a

gyümölcsök azonban esetenként nem tartalmazzák ezt a savmennyiséget, amit foszforsav adagolásával pótolni kell. Így lehet elérni a mikrobiológiai szempontból optimális 2,8–3,2 közötti pH-értéket is. Amennyiben a cefrét hőkezelek, akkor savadagolásra nincs szükség, mert a hőkezelés hatására drasztikusan csökken a mikrobaszám.

Minden gyümölcsön vannak vadélesztők, amelyek beindítják ugyan az erjedést, de az erjedési folyamatokat nemkívánatos irányba is terelhetik, vajsav, tejsav, aceton képződhet. Ezért célszerű az erjesztést irányítottan, fájélesztők hozzáadásával végezni. Kifejezetten gyümölcscefrék erjesztéséhez nincsen élesztő, de a borászatban alkalmazott fájélesztők a cefre erjesztése során is jó hatásfokkal használhatók. A különleges cefrézési eljárások közé tartozik, amikor pektinbontást alkalmaznak a rostos gyümölcsökből préselhető levek mennyiségének növelésére. A pektin vízkötő, kocsonyásító hatású poliszacharid, mely a növények sejtfalában található, ami miatt nehéz az ilyen gyümölcsökből levet készíteni. Az erjedés is nehezebben megy végbe, mert az enzimek nehezebben jutnak hozzá a cukormolekulákhoz. Ilyen esetben pektinbontó enzimeket alkalmaznak, melyek hatására nő a lékihozatal, és emelkedik a terpinol, a linalool, a nerol és a geraniol mennyisége, melyek a gyümölcs fontos aromaanyagai.

Az erjesztésre való előkészítés során a gyümölcsöt víz hozzáadása nélkül 80 °C-on nyomás alatt gőzölik, melynek során a gyümölcs feltáródva péppé alakul, nem kell aprítani, a gőz megöli a mikroorganizmusokat, nagyobb lesz a szeszhozam és kiváló minőségű párlat nyerhető. Az eljárás a szilva és az alma esetében terjedt el, de a tequilakészítés során is alkalmazzák. A cefre, az édes sejtnedveket tartalmazó anyag sűrűsége a cukortartalomtól függően egy fölött van. Az édes cefre szerves savakat, szénhidrátokat, enzimeket, aromaanyagokat, vitaminokat és ásványi elemeket tartalmaz. Az erjesztés során egy molekula glükózból két molekula alkohol és két molekula szén-dioxid képződik. Az erjeszthető cukrok közül a legfontosabb a fruktóz, a glükóz és a szacharóz, melyet az invertáz enzim még az erjedés megindulását megelőzően glükózza és fruktózza bont. (Az erjedési folyamatokat a borral foglalkozó fejezetben részletesen tárgyaltuk.) Az előerjedési fázisban a hőmérséklet lassan emelkedik, az élesztőszám növekszik, megindul az alkohol és a szén-dioxid képződése. A fő erjedési fázisban, a harmadik napon a cefre hőmérséklete még hűtés esetén is 18 °C-ról 22–28 °C-ra emelkedik, majd az utóerjedési fázisban a hűtés hatására ismét visszaáll 18 °C-ra.

Az erjesztés lehet szakaszos vagy folyamatos. A szakaszos erjesztés során a cukorból alkohol és szén-dioxid keletkezik, ezért megjelennek a buborékok. Az erjeszthető cukortartalom csökkenésével a cefre az utóerjedési fázisba jut, amikor mozgása lelassul, a habzás megszűnik, a cefre felszínén szén-dioxid védőréteg keletkezik. Pár nap múlva a cefre megnyugszik, az édes cefre erjedése befejeződött. A folyamatos erjesztési eljárásnál a fő erjedési fázisban a cefrét harmadolják vagy felezik, majd ebből több tartályt beoltanak a klasszikus szintenyészeti eljárással. A főerjedésben lévő további tartályokból újabb édes cefre tartályok

erjesztése indítható, azonban figyelni kell arra, hogy egy idő után az élesztősejtek tevékenysége lassul, az erjesztési határfok csökken, az élesztősejtek előregszenek, amikor is új élesztővel kell az erjesztést folytatni.

5.9.5.3. *Lepárlás*

Előnyös a cefrét azonnal az utóerjedési fázis után kifőzni, mert az ilyenkor kialakult másodlagos aromaanyagok még frissek, az instabil illó aromák pedig még nem károsodtak. Hosszú várakozás után a cefre előregedik, az élesztősejtekből aminosavak keletkeznek, amelyek kozmaolajokká alakulnak át, és bejutva a középpárlatba, kellemetlen aromát okozhatnak.

A kierjedt cefrében víz, 3–8 térfogat százalék etil-alkohol, illó és nem illó oldott anyagok és oldhatatlan szilárd anyagok találhatók. A pálinkakészítés egyik legfontosabb folyamata az alkohol és a megfelelő íz- és illatanyagok kinyerése a cefréből, melyre legalkalmasabb módszer a lepárlás vagy desztilláció. A lepárlás során a cefréből hőközléssel gőzt állítunk elő, majd hűtéssel cseppfolyósítjuk azt. A forrásban lévő anyag és az elpárolgott gőz összetétele jelentősen különbözik egymástól, mert a gőzfázisban az illó alkotórészek feldúsulnak. A lepárlási művelet tehát az elgőzölgötetésből és a cseppfolyósításból áll.

Elgőzölgötetéskor hőt közlünk a folyadékkal, melynek során gőz keletkezik. A folyadékok már a forráspontjuk alatti hőmérsékleten is párolognak, a forrásponton, ahol a folyadék elkezd forrni, a párolgás intenzívebb lesz, majd az egész folyadék gőz halmazállapotúvá válik. Mivel az anyagok különböző hőmérsékleten érik el forráspontjukat, ezért az alacsonyabb hőmérsékleten forró folyadékokat könnyen illó, a magasabb hőmérsékleten forró anyagokat pedig nehezen illó anyagoknak hívjuk. A cseppfolyósítás során a gőz fázisban lévő anyagokat hűtéssel cseppfolyósítjuk, amely lehet teljes vagy részleges.

A pálinka lepárlása szakaszos vagy folyamatos üzemben történhet. A szakaszos egyszerű desztilláció során a kiforráló üstbe helyezett anyag forrni kezd, majd a gőzt elvezetik és kondenzáltatják, és a kondenzátumot összegyűjtik addig, míg a kondenzátum el nem éri a kívánatos összetételt. A folyamatos egyszerű desztilláció során a cefrét folyamatosan táplálják be, a folyadékfázist részlegesen elpárologtatják, a kapott gőzt és a visszamaradt folyadékot pedig folyamatosan elvezetik. A szakaszos rektifikáció során a gőzöket folyamatosan felfelé vezetnek egy oszlopon, majd kondenzáltatják. A kondenzátum egy részét visszavezetik az oszlopra, a másik részét pedig kondenzáltatják, minek során megkapják a desztillátumot. A kondenzátum és a desztillátum tömegáramának aránya a reflux. A visszavezetett kondenzátum az oszlopon a maradék elegy gőzeivel keveredve újra felforr, gőzét újra kondenzáltatják. A desztilláció tehát több lépésben játszódik le, amit addig folytatnak, amíg a desztillátum összetétele el nem éri a kívánt értéket. A folyamatos rektifikálás során az első lépésben, teljes refluxot alkalmazva, az oszlopon beállítják az egyensúlyi állapotot, majd az oszlop egy

közbenső pontjára vezetik a kiindulási elegyet. A gőz egy részét desztillátumként elvezetik, a másik részét visszavezetik az oszlopra, a maradékot pedig a kiforráló üstből folyamatosan vezetik el. A működés során állandósult állapot alakul ki, a desztillátum és a maradék tömegárama és összetétele állandó lesz. Ez az eljárás a nagy kapacitású, ipari szeszt előállító üzemekre jellemző.

A lepárlás során az alacsony alkoholtartalmú (4–8%) gyümölcscefréből egy-szeri lepárlással alszeszt állítunk elő, melynek alkoholtartalma 20–30% között lehet. Az alszesz újbóli lepárlásával 55–60 térfogat százalékos készterméket, pálinkát tudunk előállítani. Ha többszöri lepárlást végzünk, a párlat összetétele elérheti az ezeotropos elegy összetételét is. Idejétmúlt ma már az a nézet, hogy a magyar pálinka kizárólag kisüsti rendszeren, kétszeri párlással készül. A mai új rendszerek egy lépésben képesek többféle minőségű késztermék előállítására, melynek elemei a főzőüst oszloppal kombinálva, a katalizátor, a hűtőberendezés, a szeszmérő, a szedőedények, az irányító számítógépes rendszer és a tisztítórendszer.

Az oszloppal kombinált főzőüstnél fontos követelmény, hogy bizonyos felületek rézből készüljenek, mely a lepárlás hőmérsékletén katalizáló hatású, így részt vesz az aromát adó illatanyagok képzésében. Ezért a legtöbb esetben az üst rézből készül, rozsdamentes lemezburkolattal ellátva, duplikátoros fenékképzéssel. Térfogatuk 100–1000 liter között változhat. Fűtési rendszerük alapján lehetnek indirekt, illetve direkt rendszerűek. A direkt fűtésnél a gőzt közvetlenül a cefrébe vezetik, az indirekt fűtési rendszer pedig lehet falon keresztüli fűtést alkalmazó vagy duplikátoros rendszerű, ahol a dupla falba vezetett forró víz melegíti a cefrét. Ezen utóbbi módszerrel a cefre odaégése kiküszöbölhető. A teljesen zárt rendszerű üstök mechanikai keverővel felszereltek. Az üstfedélre építik rá a sisakot vagy dómot, amelyet esetenként deflegmátorral kombinálnak. A lepárlás első szakaszában a gőzök az üstfedelelet elhagyva belépnek az üstsisakba, amikor a hőmérséklet-különbség hatására részleges kondenzáció megy végbe. A magasabb forráspontú párák a sisak belső felületén részlegesen kondenzálódnak, melynek hatására csak az alkoholban dúsabb párák jutnak a páracsőbe, míg az alkoholban szegényebb, vízben dúsabb párák visszajutnak az üstbe. Fontos tartozék az üsthez integrált, deflegmátorral egybeépített aroma- és alkoholkoncentráló oszlop, melynek elsődleges feladata a szennyező alkotók leválasztása, az aromaanyagok és az alkohol koncentrálása. A párlási folyamat úgy zajlik, hogy az üstben a forrásban lévő cefréből a vizes alkoholpárák felszállnak a koncentráló oszlop irányába, és az eltávozó gőzök minden esetben alkoholban gazdagabbak lesznek, mint a forrásban lévő cefre. Különböző technológiai megoldások folytán az alkoholban dús párák folytatják útjukat a hűtő irányába.

A hűtő funkciója a koncentráló oszlopról érkező gőzök kondenzálása, illetve hogy a kondenzált párlatot 15–18 °C-ra hűtse. Rozsdamentes acélból készül, melyben az alkoholgőzök az ellenáram elve szerint kondenzálódnak. Jó, ha a hűtőcsövek rézből készülnek, mert ez teszi teljessé a pálinka aromáját. A hűtőből kilépő magas alkoholtartalmú folyadék az epruvettába kerül, ahol ellenőrizhe-

tő az átfolyó pálinka alkoholkoncentrációja. Az alkoholtartalom-mérőt csappal látják el, ahonnan a párlat alkoholtartalma folyamatosan nyomon követhető, és érzékszervi vizsgálatok alapján itt különítik el az elő-, a közép- és az utópárlatot.

A hagyományos kisüsti pálinkafőzés három szakaszból áll: az első szakaszban leválasztjuk az előpárlatot, a másodikban a középpárlatot, míg a legvégén különülnek el az utópárlat alkotói. Az etil-alkohol mellett mindhárom párlatban megtalálhatók az íz- és aromaalkotók, de a minőségrontó vegyületek is. Nagyon lényeges, hogy miként sikerül érzékszervi úton a kellemetlen aromát adó alkotórészeket az értékes, kellemes aromájú komponensektől elválasztani. Ezt a feladatot csak nagy tapasztalattal rendelkező, kiváló és kifinomult érzékszervekkel bíró ember képes elvégezni.

A cefre az előmelegítő tartályba kerül, ahol aromaveszteség nélkül 40–45 °C-ra felmelegszik. A desztilláció a rézből készült üstökben két lépésben megy végbe. A főzőüst térfogata 200–500 (maximum 1000) liter között van, melyet korszerű technológia esetén gőzzel fűtenek. Fontos alkotórészei a pálinkafőzőnek a vörösréz sisak, valamint a legalább 6–8 méter hosszú, 80–100 mm átmérőjű, 20–30 fokban az üst irányába lejtő páracsővek, melyek léghűtéses deflegmátorként működnek. A főzési folyamat első szakaszában a cefréből kidesztilláljuk az alkoholt és az egyéb illékony anyagokat. Az eredmény az alszesz, melynek szeszfoka 10–30% térfogat. Az alszeszt az alszesztartályból a finomító üstbe szivattyúzzák, melyből újabb desztillációval kapjuk a jó minőségű gyümölcspárlatot, a finomított alszeszt vagy középpárlatot. A pálinkafőzés során folyamatosan kell az érzékszervi vizsgálatot végezni, mert csak így lehet az elő- és utópárlatot egymástól szétválasztani. Az előpárlat kezdetben zavaros és kellemetlen, szúrós szagú is lehet, melyet rézelejének neveznek, amit célszerű végleges előpárlatként gyűjteni és megsemmisíteni. Később a párlat kitisztul, megjelenik a gyümölcsillat. Az előpárlatot addig kell leválasztani, amíg eltűnnek a csípős ízű aldehidek és gyümölcsízű lesz a párlatunk. Nagyon fontos, hogy káros íz- és illatanyagok ne kerüljenek a késztermékbe, a középpárlat az adott gyümölcsre jellemző ízű és illatú legyen, alkoholtartalma pedig érje el a 35–40%-ot. A középpárlat a szeszmérőn keresztül kerül a pálinkagyűjtő tartályba, ahol alkoholtartalma elérheti a 60–65%-ot is.

5.9.5.4. A pálinka tárolása, érlelése, házasítása

A lepárlás után a pálinkát tárolni, pihentetni és érlelni szükséges. A pálinka tárolására 10–300 hektoliteres, rozsdamentes acélból készült tartályokat használnak. Magas alkoholtartalommal nem szokás a pálinkákat forgalomba hozni, mert ekkor a domináns alkoholíz mellett a pálinka aromái háttérben maradnak, elvesznek. A gyümölcspálinkák értékei, illat- és ízviláguk 40–45% alkoholkoncentrációnál teljesebben ki, a pálinkák ekkor adják vissza legkifejezettebben a gyümölcs értékeit. Ilyenkor dominánsan jelentkezik az íz- és illatvilág, és nem zavar az etil-alkohol jelenléte. A pálinka optimális alkoholfokának beállítása ioncserélt

desztillált vízzel végezhető el. A számított mennyiségű vizet több lépésben, kis mennyiségben, keverés közben kell a pálinkához adni. A hígítás után következik a pihentetés, melynek időtartama 30–40 nap. Ezen időszak alatt a pálinka színe és beltartalmi értékei nem változnak meg, viszont a pihentetési idővel az ital harmonikussá válik. Fahordós érleltetés esetén azonban a fa ízanyagainak beépülésével egy minőségében más termék keletkezik.

A pihentetés után következik az érlelés, melynek során egy jobb minőségű termék alakul ki harmonikus virágillattal, fűszeres háttérízzel, édeskés, lágy gyümölcsösséggel, illattal. Az érlelés bonyolult, összetett folyamat, melynek fontos kelléke a tölgyfahordó, ugyanis a hordóban, illetve a hordódongában játszódik le azok az oxidációs-redukációs folyamatok, melyek a végső íz és illat kialakításáért felelnek. A hordós érlelés olyan illatokkal és ízekkel gazdagítja a pálinkát, amelyek semmilyen más módszerekkel nem produkálhatók. Az érlelésre alapvetően tölgyfahordókat használnak, de nem kizárt másfajta, pl. a gyümölcsfajtaival azonos fából készült hordó használata sem. Az érlelés során minden hordó érzékszervi vizsgálatát hetente el kell végezni, melyből a változások kedvező vagy kedvezőtlen irányára lehet következtetni. Az érlelést követően kerülhet sor a házasításra, illetve a frissítés elvégzésére. A házasításhoz ismerni kell a pálinka előállításának minden mozzanatát, mert csak így lehet a kívánatos íz dominanciáját elősegíteni.

A gyümölcságyon történő érlelés azt jelenti, hogy a pálinkát legalább három hónapig, élelmiszerek tárolására alkalmas érlelő tartályban gyümölccsel együtt érlelik. Ennek során a gyümölcs szín- és ízanyagai beoldódnak a pálinkába, ami ettől új tulajdonságokat nyer. Színe az érlelésben részt vevő gyümölcs színét veszi fel, íze a karakteresebb, a gyümölcsből bekerülő pektintől és cukortól teltebbé, lágyabbá, selymesebbé válik. A jó minőségű pálinka előállítása érdekében 100 liter pálinkához legalább 10 kg jó minőségű gyümölcsöt kell érlelő közegként felhasználni. Lényeges, hogy ilyen pálinkát is csak kiváló minőségű eredeti pálinkából lehet előállítani, mert az erjesztési és lepárlási hibákat a gyümölcságyas érleléssel nem lehet korrigálni.

5.9.5.5 A pálinka íz- és illatszerkezetének kialakítása, a pálinkaaromák

A jó minőségű pálinka előállítása során a korszerű technika alkalmazásán túl szükség van a különféle illat és íz alkotók elkülönítésére a párlás során, majd az elkülönített frakciók kóstolással való házasítása következik. Az íz- és illatvilágot tovább lehet tökéletesíteni különféle hordókban való érleléssel. A jó minőségű párlatokban virágaromákat, növényi és fűszeraromákat, erjesztési aromákat, gyantás és füstös jellegű aromákat lehet felismerni. A gyümölcsaromákon belül karakterisztikusak a friss gyümölcsre (körte, málna, barack, szilva, alma stb.) jellemző aromák, amelyek a friss és az érlelt párlatok komponensei. Ide tartoznak a citrusfélék, a banán, a kivi, a citrom és a narancs aromái, amelyek majd minden párlatban kiegészítő alkotóként jelen vannak. A mogoró és a mandula illata

jobbára az érlelt párlatokban található meg. A virágaromák (rózsa, jácint, szegfű, akác, ibolya stb.) magas illatküszöbük miatt a legértékesebb illat- és ízalkotók, ugyanis rendkívüli intenzitásukkal nemcsak a friss, hanem az érlelt párlatoknak is nélkülözhetetlen komponensei. A növényi jellegű ízek és illatok (széna, föld, hagyma) jelenléte általában hibára utal, míg a bors, a vanília és a fahéj illata többnyire az érlelt párlatokban érezhető, de almás termésű gyümölcsök friss párlataiban is felismerhető. Az élesztős, káposztás jelleg, az ecetes, aldehides illat, a sajtra emlékeztető aroma hibát jelent, ami az erjesztési vagy lepárlási folyamatok nem megfelelő voltára vezethető vissza. A hibás alapanyag vagy a hosszú fahordós érlelés fenyőfa-, petróleum- vagy kátrányillatot okozhat, a füstös aromák (pirított kenyér, pirított mogyoró, kávé, dohány) viszont szükségesek, de az erősen égett íz és illat hordókezelési hibát feltételez.

Az etilacetát és az acetaldehid okozzák az előpárlatosságnak nevezett hibát akkor, ha kevés előpárlatot választunk el, és ezek a komponensek bekerülnek a középpárlatba, amikor is jellegzetes, szúrós, oldószerre emlékeztető szagot lehet érezni. Az etil-acetát 800 mg/liter koncentrációban már érezhető, és negatívan befolyásolja a pálinka minőségét. A metil-alkohol tisztulás hányada az etil-alkoholéval azonos, ezért annak ellenére, hogy forráspontja (64,7 °C) jóval alacsonyabb az etil-alkoholénál, az előpárlattal nem választható el attól. Analitikai módszerekkel bizonyítani lehet, hogy az előpárlatban a metil-alkohol relatíve nagy koncentrációban fordul elő, de még a középpárlatban is jóval a kimutathatóság határa felett van.

A kozmaalkoholok közé tartozó amil-alkohol és izoamil-alkohol jelentős koncentrációban található meg a gyümölcspárlatokban. Forráspontjuk magasabb az etil-alkoholénál, tisztulási hányadosuk viszont egynél nagyobb. Ezek a komponensek az előpárlatban is megjelennek, koncentrációjuk a középpárlatban eleinte nő, majd a középpárlat vége felé csökken.

A lepárlóüstök fűtésére fát, gázt vagy gőzt használnak. Nagyon fontos az energia pontos szabályozása, mert ez szabja meg a különböző párlatok egymástól való éles elválaszthatóságát. A lepárlókat csak nyílt rendszerként szabad működtetni, azaz biztosítani kell a kondenzálódó gőzökből keletkező párlat szabad távozását, ellenkező esetben a főzőüst, a túlnyomás következtében, fel is robbanhat. A fűtést nagy energiával kell kezdeni, majd az elválasztáshoz közeledve az intenzitást csökkenteni kell, hogy az előpárlat éles elválasztását meg lehessen valósítani.

A gyümölcsaromák egy része az előpárlatban a nem kívánatos komponensekkel együtt jelenik meg, majd a gyümölcsaromák nagyobb része ezt követően a középpárlatban desztillál át. Az előpárlat elvételének befejezési pontját szaglással és ízleléssel kell megállapítani, ami akkor megfelelő, ha a legtöbb íz- és aromaanyag átkerül a középpárlatba. A kedvezőtlen komponensek közül (elsősorban etil-acetát) csak annyi kerülhet a középpárlatba, ami még nem okoz íz- és aroma-hibát. Nem szabad a biztonság kedvéért túl sok előpárlatot elvenni, mert az aromaanyagok egy része nem kerül be a főpárlatba és a végtermék aromaszegény lesz.

Az előpárlat elválasztása után addig folytatódik az egyenletes hűközlés, míg el nem érünk az utópárlat elválasztásához, melynek felismerése ugyancsak nagy gyakorlatot igényel. Ha az utópárlatot nem választjuk el időben, akkor a középpárlat főként az átdesztilláló szerves savaktól kedvezőtlen ízű és illatú lesz. Célszerű a középpárlat szedését az optimálisnál kissé előbb befejezni, mert ekkor az íz- és aromaanyagok döntő hányada már átdesztillált, maximum némi alkoholvesztéssel szennvedünk el, de megvédjük a középpárlatot az ízhibát okozó anyagoktól.

Az utópárlat szedésének kezdetét is érzékszervi vizsgálattal kell megállapítani, és általános tapasztalat, hogy a középpárlat szedését akkor kell befejezni, ha annak alkoholkoncentrációja eléri az 55–60%-ot. Lehet a középpárlat után több utópárlatot is szedni, és a lepárlás végén, az érzékszervi minősítés alapján kell döntenie annak sorsáról. Otthoni főzésnél az előpárlat szedésének megállapítására a desztillátumokat kisebb edényekben fogjuk fel, majd az érzékszervi bírálat alapján döntünk a különböző párlatok felhasználásáról. A kóstolás előtt a párlatot célszerű 40–45%-osra vízzel hígítani, hogy az alkohol nagy koncentrációja ne nyomja el az érzékszerveket.

A friss párlat fogyasztásra alkalmatlan, azt pihentetni és érlelni kell, mielőtt a fogyasztó asztalára kerül. A friss pálinka íze csípős, karcolja torkot, az aromák még nincsenek harmóniában egymással, csak a pihentetés során fellépő vegyi reakciók után alakulnak ki végleges formájukban. A pihentetés során időnként levegőztetni is lehet a párlatot, melynek során az ízt rontó anyagok elbomolhatnak vagy eltávoznak a párlatból, hozzájárulva a harmonikus aromájú termék kialakulásához.

5.9.6. Eredetvédett pálinkák, különféle pálinkafajták

Jelenleg öt eredetvédett pálinkaelnevezés van közforgalomban: a békési szilvapálinka, a gönci barackpálinka, a kecskeméti barackpálinka, a szabolcsi almapálinka és a szatmári szilvapálinka, amelyhez hamarosan csatlakozhat az újfahértői meggypálinka, a göcsei körtepálinka és a pannonhalmi törkölypálinka.

A 2008. évi LXXIII. törvény szerint csak a Magyarországon termesztett gyümölcsből, erjesztéssel készült gyümölcscefre lepárlásával nyerhető párlatokat nevezhetjük pálinkának. A cefre cukortartalmát egyéb cukorral javítani tilos. Az egyes pálinkaféleségek törvény szerinti definíciója a következő: **Kisüsti pálinka** az a gyümölcs- és törkölypálinka, amelyet legfeljebb 1000 liter űrtartalmú, rézfelületet is tartalmazó lepárló berendezésben, legalább kétszeri szakaszos lepárlással állítottak elő. **Érlelt pálinka** az a gyümölcs- és törkölypálinka, amelyet legalább három hónapig érleltek 1000 liternél kisebb, vagy legalább hat hónapig érleltek 1000 literes vagy annál nagyobb térfogatú fahordóban. A fahordóban érlelt pálinka szárazanyag-tartalma maximum 4 g/l lehet. Érlelt pálinkák esetében csak az azonos megnevezésű érlelt pálinkák elegyíthetők, de érlelési időnek csak a legfiatalabb érlelt pálinka érlelési idejét, korát lehet feltüntetni a címkén. Az érlelés időtartamát, a termék korát a címkén fel lehet tüntetni, és utalni lehet a

fahordó anyagára is. Az érlelés időtartamát az érlelés helyszínén, ellenőrizhető módon dokumentálni kell. **Ópálinka** az a gyümölcs- és törkölypálinka, amelyet legalább egy évig érleltek 1000 liternél kisebb, vagy legalább két évig érleltek 1000 literes vagy annál nagyobb térfogatú fahordóban. Az érlelés időtartamát az érlelés helyszínén, ellenőrizhető módon, dokumentálni kell. **Gyümölcságyon érlelt pálinka vagy ágyaspálinka** az a gyümölcspálinka, amelyet gyümölccsel együtt érleltek legalább három hónapig. A gyümölcságy a pálinka fajtájával azonos, ha egy gyümölcs megnevezésével jelölik, illetve tartalmazhat többfajta gyümölcsöt, de ebben az esetben csak vegyes gyümölcságyas pálinkának nevezhető. 100 liter gyümölcságyon érlelt pálinkához vagy ágyaspálinkához legalább 10 kg érett, vagy legalább 5 kg aszalt gyümölcsöt kell felhasználni. A palack címkéjén a nettó pálinkamennyiséget kell feltüntetni. Az érlelés időtartamát az érlelés helyszínén, ellenőrizhető módon dokumentálni kell.

5.9.7. A pálinka minősége, a hamisítás lehetősége

A pálinka minőségéért az előállító a felelős. A minőséget csak rendszeres ellenőrzéssel lehet bizonyítani. Az ellenőrzés azért is nagyon fontos, hogy élelmiszerbiztonsági szempontból kiváló minőségű ital kerüljön a fogyasztóhoz. A pálinka vizsgálatára sort kell keríteni, ha a jogszabályi feltételeknek való megfelelés vizsgálata a cél, és ha ki akarjuk mutatni a hamisítást, illetve az erjedés alatti hibákat.

Egy gyümölcspárlat akkor nevezhető pálinkának, ha megfelel a jogszabályi feltételeknek. A laboratóriumi mérések eredményei azt mutatják, hogy **a metilalkohol- és hidrogén-cianid-tartalom betartása szokta okozni a legtöbb problémát**. Az etil-karbamát koncentrációra jelenleg még nincs előírás, de azokban a pálinkákban, ahol a magozásra nem fordítottak kellő figyelmet, gyakran 1 mg/liter koncentrációnál nagyobb érték mérhető, ami valószínűleg a határérték lesz. Az előző három komponensen kívül az összes többi határérték könnyen teljesíthető.

Az ágyas pálinkák alkoholtartalmát, mivel itt szárazanyag is kerül az alkoholba, a hagyományos szeszfokológ pontatlanul méri, ugyanis itt a szárazanyag-tartalom növekedése a sűrűséget jelentősen megváltoztathatja. Az ilyen pálinkák alkoholtartalmát csak laboratóriumban, desztillációval vagy az erre kialakított célműszer alkalmazásával lehet elvégezni.

Mivel a pálinka nagyon drága és keresett élvezeti cikk, ezért **gyakran hamisítják**. A hamisítási módok az alábbiak lehetnek: Mesterséges aromákat juttatnak a párlatba, összekevernek különböző gyümölcsökből készült pálinkákat, és azt a drágább pálinka árán árulják. Jó példa erre, amikor málnapálinkát almapálinkával kevernek, és a keveréket málnapálinkaként hozzák forgalomba. A hamisítás egy különleges módja, amikor tiszta szeszben áztatnak különböző gyümölcsöket, majd az aromaanyagok kioldása után azt ledesztillálják és pálinkaként hozzák forgalomba. Az ilyen geistnek nevezett ital egyértelműen hamisítvány. Hamisítás az is, ha egy bizonyos pálinkát más néven, drágábban hoznak forgalomba.

A hamisítás kimutatására legalkalmasabb a **tömegspektrométerrel kapcsolt gázkromatográfia**, amellyel a pálinkában lévő illó összetevők beazonosíthatók és koncentrációjuk egyértelműen mérhető. A különféle pálinkák eltérő illóanyagai különböző kromatogramokat adnak, melyek alapján az egyes pálinkák beazonosíthatók, sőt ha egy fajta pálinkában található olyan vegyület, ami a többi pálinkában nem található meg vagy koncentrációja lényegesen eltér, akkor a pálinkák egymáshoz keverésének aránya is becsülhető.

Félóránál rövidebb idő alatt egy pálinka metil-alkohol, etil-alkohol, propil-alkohol, etil-acetát, 2-metil-propilalkohol, 2,3-butándiol vagy 3-metil-butilalkohol tartalma nagy pontossággal meghatározható. A hibás erjesztési folyamatokkal kapcsolatos vegyületek is kimutathatók a pálinkából, sőt a vegyületek minőségéből az erjesztés hibája is meghatározható. A benzaldahid és az etil-karbamát a magozással kapcsolatos problémákra utal, míg a hibás előpárlat-eltávolításra az etilacetát koncentrációjából, a hibás utópárlat-eltávolításra pedig a 2-feniletanol magas koncentrációjából lehet következtetni.

5.9.7.1. A pálinka metilalkohol-tartalma

Mivel a metil-alkohol a látóideg-károsítás folytán huzamosabban fogyasztva vak-ságot, egyszeri nagyobb mennyiségű fogyasztása pedig halált okozhat, célszerű megvizsgálni, hogy milyen módszerekkel lehet a pálinka metilalkohol-tartalmát csökkenteni. Az etil-alkoholnak nincsenek ilyen komoly mellékhatásai, ez utóbbi nagyobb mennyiségben fogyasztva „csak” rosszullétet, fejfájást, másnaposságot okoz, egészségkárosító hatása pedig csak hosszú idő után mutatkozik. Míg a metil-alkoholból enzimatisus hatásra a nagyon mérgező formaldehid keletkezik, addig az etil-alkoholból keletkező acetaldehidet szervezetünk energiaként hasznosítja, amivel az „aratópálinka” fogyasztása magyarázható.

A metil-alkohol a pektinből keletkezik az alkoholos erjedés során, ezért minden nagy pektintartalmú gyümölcsből erjesztéssel készített ital jelentős metilalkohol-tartalmú lehet. A metil-alkohol természetes alkotórésze a direkttermő szőlőkből készített bornak és a gyümölcspálinkának is. Csak míg a bor etilalkohol-tartalma alacsony, és nem képes kompenzálni a metil-alkoholt is átalakító enzimek hatását, addig a pálinka magas etilalkohol-tartalma nem engedi az enzimet hozzáférni a metil-alkoholhoz (kompetitív inhibitor), az nem tudja az igen mérgező formaldehiddé átalakítani. Nagyon fontos tehát, hogy mennyi a pálinka metilalkohol-tartalma, de az éppen olyan fontos, hogy mennyi az etil-alkohol/metil-alkohol arány, mert a kevesebb etil-alkohol nem tudja blokkolni a metilalkoholt átalakító enzimeket.

A pálinka megengedett metilalkohol-tartalma maximum 10 g/liter, azaz az etil-alkohol két nagyságrenddel nagyobb koncentrációban van jelen, ami nem engedi a metil-alkoholt méreganyaggá átalakulni. Mivel az etil-alkohol és a metil-alkohol illékonyasága hasonló, még a lényegesen eltérő forráspontjuk alapján sem választ-

hatók el teljesen egymástól. Az előpárlat metil-alkoholban ugyan dúsabb, de a köz-hiedelemmel ellentétben az előpárlat metilalkohol-tartalma csak töredéke a cefre metilalkohol-tartalmának, mert a metil-alkohol jelentős része a pálinkában marad vissza, sőt az utópárlat is tartalmaz metil-alkoholt. A metil-alkohol és az etil-alkohol íze hasonló, ezért a metil-alkohol a pálinka ízére nincs hatással, ezért a párlat metil-alkohol-tartalmáról ízleléssel nem lehet informálódni, arról csak a klasszikus vagy nagyműszeres analitikai módszerek adnak megbízható információt.

Különösen a magas pektintartalmú gyümölcsök (ribizli, alma, birs, körte) pálinkájában számíthatunk sok metil-alkoholra, de magas metilalkohol-tartalom mérhető még a csipkebogyó-, a kökény-, a galagonya- és a berkenyepálinkák esetében is. A pálinka metilalkohol-tartalmát kismértékben csökkenteni lehet, ha a cefre erjesztési hőmérséklete alacsony (16–18 °C), ha a cefre pH-ja 2,8–3,0 közötti, ha az erjedés után azonnal kifőzzük a cefrét, és ha a desztilláció során a deflegmációs hőmérséklet nem túl alacsony, mert az erőteljesebb deflegmáció magasabb metil-alkohol-tartalmat eredményez, ez viszont csökkenti az etil-alkohol-kihozataalt, tehát a gazdaságosságot. Ha nagyobb előpárlatot és utópárlatot veszünk el, akkor is csökkenthető némileg a középpárlat metilalkohol-tartalma, ami azonban együtt jár az íz- és zamatanyagok koncentrációjának csökkenésével is, ami a pálinka érzékszervi tulajdonságainak romlásához vezet.

Összefoglalva tehát: **a metil-alkohol** az engedélyezett határérték felett **káros az egészségre**, azonban része az igazi, hamisítatlan pálinkának, ezért a „pálinka” nagyon alacsony metilalkohol-tartalma esetleg arra utalhat, hogy a pálinkát hamisították és iparilag előállított tiszta szeszt keverték a pálinkához, vagy aromaanyagok segítségével abból állították elő a teljes mennyiséget. Ha valaki igazi, jó gyümölcspálinkát akar inni, akkor annak **meg kell barátkoznia a metilalkohol-fogyasztással** is. Az igazi, jó pálinka határérték alatti metilalkohol-tartalma, az etil-alkohol védő hatása miatt, kulturált fogyasztási viszonyok között, nem lehet káros az egészségre. Mivel a metil-alkoholt a pálinkából csak nagyon körülményesen lehet eltávolítani, ezért a magas metilalkohol-tartalmú pálinkát csak úgy lehet ihatóvá tenni, ha jó minőségű, alacsony metilalkohol- és magas etilalkohol-tartalmú pálinkával keverik, hogy elérjék az egészségre nem káros metil-alkohol-koncentrációt, és főként a kellő metil-alkohol/etil-alkohol arányt.

5.9.7.2. A pálinka etil-karbamát-tartalma

A fermentált italokban a fermentációs technológiától függően nagy mennyiségben fordulhat elő etil-karbamát vagy más néven uretán, mely rákkeltő tulajdonságú. Különböző országok törvényei ezért megadják azt a maximális koncentrációt, melyet az etil-karbamát nem haladhat meg. Az Európai Unió ajánlása szerint a gyümölcspálinkák maximum 1000 µg etil-karbamátot tartalmazhatnak literenként, de ismert ennél szigorúbb szabályozás is. Az etil-karbamát a csonthéjas gyümölcsökből készült pálinkákban található, mert a ciántartalmú glikozidok a

β -glikozidáz által katalizált enzimatis folyamatokban cianidra bomlanak, mely oxigén jelenlétében cianáttá alakul, és reakcióba lépve az erjedés során keletkezett alkohollal etil-karbamát keletkezik.

Az etil-karbamát az élelmiszerekben a karbamid és az etil-alkohol reakciójából is keletkezhet, mely reakció sebessége szobahőmérsékleten csekély, magasabb hőmérsékleten, a sütés, a főzés és a pirítás során azonban a reakció felgyorsul. Karbamid-források lehetnek az erjesztéssel készült élelmiszerek, beleértve az alkoholos italokat, ahol az erjedéskor az argininből karbamid és ornitin keletkezik, mely reakció sebessége 24 °C felett számottevő, ezért az erjedés hőmérsékletét ezen hőmérséklet alatt kell tartani.

Az etil-karbamát azért veszélyes anyag, mert az emberi szervezetben a bőrön keresztül is és a gyomorból is azonnal felszívódik. Lebomlása többféle módon mehet végbe. Enzimes lebomlás során egy észteráz enzim etil-alkoholra, ammóniára és szén-dioxidra bontja, vagy a citokrom 450 enzim a nitrogénatomon hidroxilálja, melyet követően egy másik észteráz enzim hidroxil-aminná hidrolizálja, ami nitrogén-monoxiddá és oxigénné bomlik, mely oxidációval átalakítja a DNS-t. Lehetséges hidroxilálás a szénatomon is, melyet követ az oldallánc oxidációja. Rágcsálókkal végzett kísérletekkel megállapították, hogy az etil-karbamát 5%-a a szervezetből változatlan formában kiürül, 90%-a hidrolízissel bomlik, 0,1%-a N-hidroxi-karbamáttá alakul, és 0,5%-ából lesz vinil-karbamát, ami az epoxigyűrű keletkezése közben a DNS-hez kovalensen kötődve rákot okozhat.

Ajtony és munkatársai (2014) egy gyors és pontos, kevés előkészítéssel járó, nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiás módszert dolgoztak ki pálinkák etil-karbamát-tartalmának meghatározására, fluoreszcens detektálással (HPLC-FLD). Az oszlop előtti származékképzést követően a fluoreszkáló termékeket C18-as utószilanizált oszlopon, acetonitril és foszfátpuffer gradiens elúcióval választották szét, a meghatározást pedig 233 nm gerjesztési és 300 nm emissziós hullámhosszon végezték. A módszerük linearitást mutatott a 20–1280 $\mu\text{g/liter}$ koncentráció tartományban, a kimutatási határ pedig 5 $\mu\text{g/liter}$ volt.

33 pálinka etilkarbamát-tartalmát meghatározva annak koncentrációja 5 és 2651 $\mu\text{g/liter}$ között változott. A legkisebb értékeket (5 $\mu\text{g/liter}$ alatt) a magozott pannonhalmi alma-, kajszibarack-, birs-, bodza-, meggy-, őszibarack-, törköly- és vilmoskörte-pálinkákban, míg a legnagyobbakat a külföldről származó, magozatlan, házi sárgabarack- és házi vegyes pálinkákban mérték (843–2651 $\mu\text{g/liter}$). Nem volt egyértelmű az összefüggés a magozott és a magozatlan pálinkák etil-karbamát-tartalmában, mert magozott szilvapálinkák esetében is mértek magas (488–528 $\mu\text{g/liter}$) értékeket. A 33 pálinka etil-karbamát-tartalmát (egy kivétellel) az EU által ajánlott 1000 $\mu\text{g/liter}$ alattinak mérték.

5.9.7.3. Egyéb, egészségre ártalmas anyagok a pálinkában

A metil-alkohol és az etil-karbamát mellett a pálinka még egyéb mérgező vagy kellemetlen ízhatású anyagokat is tartalmazhat. Ilyenek az akrolein, az acetaldehid, a hidrogén-cianid és nagy mennyiségben a réz. Az akrolein jelenléte a földszennyezésre utal, és mivel nagyon mérgező vegyületről van szó, azt a pálinkát, amely akroleint tartalmaz nagyobb koncentrációban, meg kell semmisíteni. Az acetaldehid a cefre érése során alkoholból keletkezik oxidációs hatásra. Megfelelő mennyiségű előpárlattal mennyiségét csökkenteni lehet, a pálinka esetében pedig szóba jöhet az újbóli lepárlás, amikor a pálinka első öt százalékát el kell önteni. A hidrogén-cianid mennyiségét, az acetaldehidhez és a metil-alkoholhoz hasonlóan, a pálinka újrafőzésével csökkenteni lehet. A párlat savtartalma megtámadhatja a pálinkafőző rézfelületét, melynek következtében rézionok kerülnek a pálinkába. Az előírások szerint egy liter pálinkában maximum 10 mg réz lehet jelen, ha ennél több, mennyisége ioncserével csökkenthető. A legtöbb kisüsti pálinkát előállító kis üzemben a középpárlatot kationcserélő műgyantán engedik át, mely a rézionok nagy részét megköti, a visszamaradó minimális mennyiség pedig már nem veszélyes az ember egészségére.

FELHASZNÁLT ÉS AJÁNLOTT IRODALOM

BUGLASS, A. J.

2011 *Handbook of alcoholic beverages. Technical, analytical and nutritional aspects*. John Wiley & Sons, 1–1167.

COX, J.

1999 *From vines to wines. The complete guide to growing grapes and making your own wine*. United States, Versa Press, 1–235.

CSAPÓ J.–ALBERT Cs.–CSAPÓNÉ KISS Zs.

2008 *Élelmiszeranalitika*. Válogatott fejezetek. Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–314.

CSAPÓ J.–CSAPÓNÉ KISS Zs.–ALBERT Cs.–Salamon Sz.

2007 *Élelmiszerfehérjék minősítése*. Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–506.

CSAPÓ J.–CSAPÓNÉ KISS Zs. (szerk.)

2006 *Élelmiszer- és takarmányfehérjék minősítése*. (Társszerzők: Babinszky L.–Győri Z.–Simonné Sarkadi L.–Schmidt J.). Budapest, Mezőgazda Kiadó, 1–451.

CSAPÓ J.–CSAPÓNÉ KISS Zs.

2009 A tehéntej táplálkozástudományi szempontból legfontosabb összetevői. I. Fehérjetartalom és aminosav-összetétel, zsírtartalom és zsírsav-összetétel. In: Kukovics S. (szerk.): *A tej szerepe a humán táplálkozásban*. Budapest, Melánia Kiadó, 147–165.

2009 A tehéntej táplálkozástudományi szempontból legfontosabb összetevői. II. Laktóz-, ásványianyag- és vitamintartalom. In: Kukovics S. (szerk.): *A tej szerepe a humán táplálkozásban*. Budapest, Melánia Kiadó, 167–186.

2002 *A tej és tejtermékek szerepe a táplálkozásban*. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 1–464.

2007 *Biokémia – állattenyésztőknek*. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 1–378.

2004 *Élelmiszerkémia*. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 1–492.

2004 *Élelmiszerkémia*. Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–603.

CSAPÓ J.–SALAMON R.

2006 *Tejipari technológia és minőségellenőrzés*. Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–164.

CSAPÓ J.–SCHÄFFER B.

2001 A tej tulajdonságai. In: Szakály S. (szerk.): *Tejgazdaságtan*. Budapest, Dinasztia Kiadó, 64–82.

CSAPÓ J.–VARGÁNÉ VISI É.

2014 *Fermented foods and health. 4 Conjugated linoleic acid (CLA) production in fermented foods*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 75–105.

CSAPÓ J. (szerk.)

2014 *Tejipari Technológia. Tej és tejtermékek a táplálkozásban* (Társszerzők: Fenyvessy J.–Csanádi J.–Csapóné Kiss Zs.). Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–424.

CSAPÓ J.

2004 *Biokémia*. Kolozsvár, Scientia Kiadó, 1–468.

2000 Élelmiszereink. Alapvető élelmiszerek. Tej és tejtermékek. In: Hajós Gy.–Zajkás G. (szerk.): *A táplálkozás egészségkönyve*. Budapest, Kossuth Kiadó, 131–143.

CSAPÓNÉ KISS Zs.–KUKOVICS S.–CSAPÓ J.

2009 A juh- és kecsketej táplálkozástudományi szempontból legfontosabb összetevői. In: Kukovics S. (szerk.): *A tej szerepe a humán táplálkozásban*. Budapest, Melánia Kiadó, 187–206.

EBELER, S. E.–TAKEOKA, G. R.–Winterhalter, P.

2011 *Progress in authentication of food and wine*. Washington DC: ACS Symposium Series: American Chemical Society, 1–377.

HOORFAR, J.–JORDAN, K.–BUTLER, F.–PRUGGER, R.

2011 *Food chain integrity. A holistic approach to food traceability, safety, quality and authenticity*. Woodhead Publishing Limited, 1–367.

HOORFAR, J.

2012 *Case studies in food safety and authenticity. Lessons from real life situations*. Woodhead Publishing Limited, 1–360.

KOVÁCS B.–CSAPÓ J.

2015 *Az élelmiszermeghatározás analitikai módszerei*. Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar. Készült a TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014. projekt keretében, 1–252. é. n. *Modern methods of food analysis*. University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Science and Environmental Management. Készült a TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014. projekt keretében, 1–205.

LEES, M.

2000 *Food authenticity and traceability*. Woodhead Publishing Limited, 1–585.

MORENO, J.–PEINADO, R.

2012 *Enological chemistry*. Elsevier, 1–429.

REYNOLDS, A. G.

2010 *Managing wine quality*. Volume 1. Viticulture and wine quality. Woodhead Publishing Limited, 1–606.

SINGHAL, R. S.–KULKARNI, P. R.–REGE, D. V.

1997 *Handbook of indices of food quality and authenticity*. Woodhead Publishing Limited, 1–561.

SUN, D. V.

2008 *Modern techniques for food authentication*. Elsevier, 1–714.

WARTHA V.

2011 A vörös borok hamisításáról. 1880. *Magyar Kémikusok Lapja* 66. 364.

WILSON, B.

2008 *Swindled. The dark history of food fraud, from poisoned candy to counterfeit coffee*. Princeton University Press, 1–364.

ABSTRACT – FOOD ADULTERATION

This "Food adulteration" book was written for the students of the Faculty of Technical and Social Sciences at the Campus of Csíkszereda of the Sapientia Hungarian University of Transylvania. The authors hope that this book will be used also by the students of the prospective branch for foodstuff and environmental engineering, and it may also provide help for the students of the new branches during their studies. When writing this book, the authors had to take into account the traditions of the faculty, so the analytical methods contained in this book are associated with the materials taught in the framework of other subjects. Thus, the authors' intention was to write such a book for the students that could be used during the practical teaching of several subjects.

This book starts with a brief qualitative chemical analysis, followed by a longer classical quantitative chemical analysis. In these chapters, the students can gain knowledge on the course of the qualitative and quantitative analysis, acidimetry, the oxidation-reduction as well as the precipitation titration methods, and finally on the determinations based on the formation of complex compounds. After these chapters, the methods developed for the determination of the main foodstuff components are being dealt with. At the beginning of this part, after the determination of the moisture contents, the determination of mineral components and different spectroscopic methods are discussed. Afterwards, the determination of the nitrogen-containing substances, more specifically the determination of the protein contents, protein fractions, and amino acid composition of proteins is treated. The authors put emphasis on the most expensive foodstuff component, the proteins, and try to discuss every method that is suitable for the evaluation of protein quality. Subsequent to the determination of fat contents and fatty acid composition, the examination of crude fibre and fibre fractions is treated. Among the nitrogen-free extractable substances, the sugars and starch are determined, and the properties of various sugar-containing preparations are examined as well. A special place is devoted to the determination of provitamins and vitamins, as well as to mycotoxins. As a closing compilation, at the end of most of the chapters, there are so-called "Selected chapters", in which specific foodstuff analytical methods are discussed. In the next part of the book, the authors deal with food falsification in general, food sophistication nowadays, food sophistication and its legal background, the national organizations and the strategy against food sophistication. Following this, special food sophistication cases and the demonstration of the sophistication are discussed. This part deals with the sophistication of milk and dairy products, milk from different animals and their sophistication, soy milk in cow's milk, other possibilities of the adulteration of milk and dairy products, and the determination of heat treatment of milk and dairy

products. Thereafter, the sophistication of meat and meat products is debated, including the identification of meat from different species by electrophoresis and immunological methods, fat and fatty acid analysis, and using biochemical indexes. In addition, the determination of the freshness of meat, instrumental analysis of the quality of meat and fish, the qualifying of the foods made from meat and meat additives and accessories is discussed. Thereafter, the food grains, contaminants, and the demonstration of sophistication explained, including contaminants in grain, differentiation of the rice varieties, the grains, legumes and their blends, qualifying indices for wheat and other flours, and methods for the determination of the microbial quality of grains and grain products is discussed.

Subsequently, the fruits, vegetables and their products, the examinations for the qualification of fruit and vegetable juices, the demonstration of shell homogenizate from lemon and orange juices, the dilution of the fruit juices with water, the analysis of stable isotopes, the demonstration of the mixing of different fruit juices and the parameters indicating the degree of maturation and depravity of fruits is described. Then, the edible oils and fats, the indicators measuring changes during storage and the demonstrating of the heat treatment of oils, the toxic contaminants and adulterants, the methods for the demonstration of the admixtures, blends, contaminants and adulterants of one fat in another, the blends of vegetable oils and analysis of the blends, animal fats is discussed. Thereafter, the investigation for the changes in the quality during the food processing, the effect of heat treatment for the composition of food, the chemical markers and indices for the demonstration of the changes during storage and for marking the irradiation of the foods is negotiated. At the end of the book, some examples for food adulteration from the recent years, including adulteration of the baby formulas with melamine and its demonstration, adulteration of the taumatin sweetener and the methods capable for the demonstration, effect of the dioxin content of foods for the human body and its demonstration, the adulteration of the honey, and its demonstration, and at last the adulteration of wine is negotiated.

During the course of the writing of this book, the authors tried to compile the chapters so that the students also have the possibility to carry out the discussed examinations based on the instruments of the Department of Foodstuff Science. The authors tried to build the individual chapters one upon another so that the students can get stepwise guidance from the simpler examinations to the more complicated ones, obtaining knowledge on the most important steps of the foodstuff analysis and the identification of the falsification of food.

REZUMAT – FALSIFICAREA ALIMENTELOR

Această carte, intitulată „Falsificarea alimentelor” a fost concepută pentru studenții Facultății de Științe Tehnice și de Natură din Campusul din Miercurea Ciuc al Universității Sapiientia. Sperăm că această lucrare va fi folosită atât de viitorii studenți în ingineria produselor alimentare, cât și de către noile specializări în viitor. În timpul scrierii prezentului volum am luat în considerare tradițiile acestei facultăți, în sensul că metodele analitice din această lectură sunt asociate cu subiectele predate la celelalte materii. Intenția noastră era ca această carte să fie de folos pentru studenți la mai multe subiecte practice.

Lucrarea pornește de la o scurtă prezentare a chimiei analitice calitative, urmată de chimia analitică cantitativă pe tot parcursul volumului. În aceste capitole, studenții pot obține cunoștințe despre analize calitative și cantitative, acidimetrică, oxido-reducție, cât și despre titrarea cu precipitare, determinarea pe baza formării complexilor. După aceste capitole, urmează determinările componentelor din alimente. În prima parte a acestui capitol, după determinarea conținutului de umiditate, urmează determinarea componentelor minerali cu diferite metode spectrofotometrice. În cele din urmă, discutăm despre determinarea substanțelor cu conținut de nitrogen, mai precis despre determinarea proteinelor, fracțiilor de proteine și compoziția de aminoacizi a proteinelor. Ne ocupăm mai amănunțit cu cea mai de valoare componentă a alimentelor, cu proteinele, și încercăm să discutăm toate metodele posibile pentru evaluarea calitativă a acestora. După metodele de determinare a conținutului de grăsimi și de acizi grași, vom discuta despre examinarea fibrelor crude și a fracțiunilor acestora. La substanțele extractibile fără conținut de nitrogen vom determina zaharurile și amidonul și vom examina proprietățile a câtorva preparate cu zahăr. Determinarea provitaminelor, vitaminelor și a micotoxinelor ocupă un loc special în această carte. La finalul celor mai multe capitole se găsesc așa numite capitole selectate, în care discutăm despre metode analitice specifice alimentelor și despre falsificarea alimentelor.

Începând cu capitolul 4 discutăm despre falsificarea alimentelor în general, cum se falsifică alimentele în zilele noastre, despre cadrul juridic, despre organizațiile naționale și despre strategiile împotriva falsificării alimentelor. Acest capitol este urmat de discutarea pe larg a cazurilor speciale de falsificare și despre demonstrarea falsificării. Se discută despre falsificarea laptelui și a produselor lactate, laptele de la diferite specii de animale, lapte de soia în lapte de vacă, despre determinarea tratamentului termic al laptelui și a produselor lactate. Urmează falsificarea cărnii și a produselor din carne, ce include și autentificarea cărnii, speciile de animale de la care provine, prin electroforeză și prin metode imunologice. Sunt discutate și metode pentru determinarea prospețimii cărnii,

analiza instrumentală a calității cărnii și a peștelui, calificarea produselor din carne și a aditivilor folosiți. Urmează capitolul Cereale alimentare, contaminanți și determinarea falsificării, în care se explică inclusiv contaminanții din cereale, diferențierea soiurilor de orez, boabe, legume și amestecurile lor, indicii de calificare la grâu și alte făină, și sunt discutate metodele de determinare a calității microbiene de cereale și a produselor din cereale.

În capitolele următoare sunt tratate fructele, legumele și produsele lor, uleiuri și grăsimi, indicatori ai procesării termice a alimentelor, mierea și îndulcitorii, vinul respectiv falsificarea produselor și metode de decelare a falsificării.

Pe parcursul scrierii acestei cărți autorii au încercat să compileze capitolele în așa fel încât studenții să aibă posibilitatea de a realiza examinările discutate pe instrumentele Departamentului de Științe Alimentare. Autorii au încercat să construiască capitolele individuale unul după celălalt în așa fel încât studenții să poată parcurge treptat informația de la examinări mai simple la cele mai complicate, obținând cunoștințe cu privire la măsurile cele mai importante ale analizei produselor alimentare și identificarea falsificării de alimente.

A SZERZŐKRŐL

Dr. Albert Csilla gyógyszerész, 2001-ben végzett a Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetemen. Kétéves gyógyszerészi munka után, 2003 végén kezdett el dolgozni a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem csíkszeredai campusán gyakornokként. A Kaposvári Egyetem Doktori Iskolájában szerzett PhD-fokozatot. Jelenleg adjunktus, a biokémia, a toxikológia és a műszeres analitika tárgyakból előadást és gyakorlatokat tart környezet- és élelmiszer-mérnök hallgatóknak. Kutatómunkáját a fehérje- és aminosav-analitika területén fejti ki, az utóbbi időben pedig a D- és L-aminosavak szétválasztásával és meghatározásával foglalkozik.

Dr. Csapó János, az MTA doktora, egyetemi tanár, okleveles vegyész, több mint negyven éve foglalkozik élelmiszerek fehérjetartalmának, aminosav-összetételének, újabban D-aminosav-összetételének meghatározásával, a fehérje biológiai értékének mérésével. A vezetésével kidolgozott új analitikai-kémiai módszereket több élelmiszer- és takarmányanalitikai laboratóriumban alkalmazzák. Tudományos munkáját is nagyrészt ezen a területen fejtette ki. A graduális és posztgraduális, valamint a doktori képzésben oktatja a biokémia, az élelmiszer-kémia, a mezőgazdasági kémia, a tej és tejtermékek a táplálkozásban, az élelmiszer- és takarmányfehérjék minősítése, a funkcionális élelmiszerek és az élelmiszerhamisítás, a PhD-hallgatóknak pedig az állatitermék-előállítás biokémiája, az élelmiszer-kémia, a modern módszerek az élelmiszer-analitikában és az élelmiszer- és takarmányanalitika című tárgyakat.

Csapóné Dr. Kiss Zsuzsanna okleveles vegyész, tudományos munkatárs, jelenleg nyugdíjas, négy évtizeden át foglalkozott élelmiszerek és takarmányok összetételének meghatározásával, elsősorban makro- és mikroelemeinek elemzésével. Doktori disszertációjában eltérő genotípusú szarvasmarhák kolosztrum- és tejösszetételét vizsgálta, és tudományos munkáját is – az analitikai kémia mellett – nagyrészt ezen a területen fejtette ki. A graduális és posztgraduális képzésben oktatta a kémia, a biokémia és az élelmiszer-kémia című tárgyakat.

FÜGGELÉK

Az elemek rendszáma, vegyjele és atomtömege

Elem	Vegy-jel	Rend-szám	Atomtömeg	Elem	Vegy-jel	Rend-szám	Atomtömeg
Aktínium	Ac	89	(277)	Lítium	Li	3	6,941
Alumínium	Al	13	26,9815	Lutécium	Lu	71	174,97
Amerícium	Am	95	(243)	Magnézium	Mg	12	24,305
Antimon	Sb	51	121,45	Mangán	Mn	25	54,9380
Arany	Au	79	196,9665	Mendelévíum	Md	101	(256)
Argon	Ar	18	39,948	Molibdén	Mo	42	95,94
Arzén	As	33	74,9216	Nátrium	Na	11	22,9898
Asztácium	At	85	(210)	Neodímium	Nd	60	144,24
Bárium	Ba	56	137,34	Neon	Ne	10	20,179
Berillium	Be	4	9,01218	Neptúnium	Np	93	(237,0482)
Berkélium	Bk	97	(249)	Nikkel	Ni	28	58,71
Bizmut	Bi	83	208,9806	Nióbium	Nb	41	92,9064
Bór	B	5	10,81	Nitrogén	N	7	14,0067
Bróm	Br	35	79,904	Nobélium	No	102	(254)
Cérium	Ce	58	140,12	Ólom	Pb	82	207,2
Cézium	Cs	55	132,9055	Ón	Sn	50	118,69
Cink	Zn	30	65,37	Oxigén	O	8	15,9994
Cirkónium	Zr	40	91,22	Ozmium	Os	76	190,2
Diszpróízium	Dy	66	162,50	Palládium	Pd	46	106,4
Einsteinium	Es	99	(254)	Platina	Pt	78	195,09
Erbium	Er	68	167,26	Plutónium	Pu	94	(242)
Európzium	Eu	63	151,96	Polónium	Po	84	(210)
Ezüst	Ag	47	107,868	Prazeodímium	Pr	59	140,9077
Fermium	Fm	100	(253)	Prométium	Pm	61	(145)
Fluor	F	9	18,9984	Protaktínium	Pa	91	231,0359
Foszfor	P	15	30,9738	Rádium	Ra	88	(226,0254)
Francium	Fr	87	(223)	Radon	Rn	86	(222)
Gadolínium	Gd	64	157,25	Rénium	Re	75	186,2
Gallium	Ga	31	69,72	Réz	Cu	29	63,546
Germánium	Ge	32	72,59	Ródium	Rh	45	102,9055
Hafnium	Hf	72	178,49	Rubídium	Rb	37	85,4678
Hélium	He	2	4,00260	Ruténium	Ru	44	101,07
Hidrogén	H	1	1,0080	Stroncium	Sr	38	87,62
Higany	Hg	80	200,59	Szamárium	Sm	62	150,4

Elem	Vegy- jel	Rend- szám	Atomtömeg	Elem	Vegy- jel	Rend- szám	Atomtömeg
Holmium	Ho	67	164,9303	Szelén	Se	34	78,96
Indium	In	49	114,82	Szén	C	6	12,011
Iridium	Ir	77	192,22	Szilícium	Si	14	28,086
Itterbium	Yb	70	173,04	Szkandium	Sc	21	44,9559
Ittrium	Y	39	88,9059	Tallium	Tl	81	204,37
Jód	I	53	126,9045	Tantál	Ta	73	180,9479
Kadmium	Cd	48	112,40	Technécium	Tc	43	(98,9062)
Kalcium	Ca	20	40,08	Tellúr	Te	52	127,60
Kalifornium	Cf	98	(251)	Terbium	Tb	65	158,9254
Kálium	K	19	39,102	Titán	Ti	22	47,90
Kén	S	16	32,06	Tórium	Th	90	232,0381
Klór	Cl	17	35,453	Túlium	Tm	69	168,9342
Kobalt	Co	27	58,9332	Urán	U	92	238,029
Kripton	Kr	36	83,80	Vanádium	V	23	50,9414
Króm	Cr	24	51,996	Vas	Fe	26	55,847
Kúrium	Cm	96	(247)	Volfrám	W	74	183,85
Lantán	La	57	138,9055	Xenon	Xe	54	131,30
Laurencium	Lr	103	(257)				

[illegible]

Scientia Kiadó

400112 Kolozsvár, Mátyás király (Matei Corvin) u. 4.

Tel./fax: +40-364-401454

E-mail: scientia@kpi.sapientia.ro

www.scientiakiado.ro

Műszaki szerkesztés:

Dobos Piroska

Korrektúra:

Szenkovics Enikő

Tipográfia:

Könczey Elemér

Készült a kolozsvári Idea nyomdában

Igazgató: Nagy Péter

s a p i e n t i a
t a n k ö n y v e k

ISBN 978-973-1970-98-1

